UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1934-1935. — N° 247

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA VALEUR COMPARATIVE DE DIVERSES MÉTHODES DE SÉRODIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le mercredi 19 décembre 1934

PAR

Henri-Georges BROUSSE

Pharmacien

Né à LEVALLOIS-PERRET (Seine), le 27 avril 1907

Examinateurs de la Thèse :

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président.*

LABAT, professeur..... } *Juges.*

DELAUNAY, professeur..... }

VITTE, agrégé.....

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1934

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1934-1935. — N° 247

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA VALEUR COMPARATIVE DE DIVERSES MÉTHODES DE SÉRODIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

présentée et soutenue publiquement le mercredi 19 décembre 1934

PAR

Henri-Georges BROUSSE

Pharmacien

Né à LEVALLOIS-PERRET (Seine), le 27 avril 1907

Examinateurs de la Thèse :

MM. AUBERTIN, professeur..... *Président.*

LABAT, professeur..... } *Juges.*

DELAUNAY, professeur..... } *Juges.*

VIITE, agrégé..... } *Juges.*

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1934

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC.

ASSESSEUR : M. GUYOT.

DOYEN HONORAIRE : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, SELLIER, BEILLE, CASSAËT, CHAVANNAZ, PACHON

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL.
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique chirurgicale	BÉGOUIN.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES.
Clinique chirurgicale et gynécologique	GUYOT.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales	CARLES.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Chimie biologique et médicale	DELAUNAY.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	SABRAZÈS.	Physique médicale et pharmaceutique	SIGALAS.
Anatomie	VILLEMIN.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	DUPOUY.	Clinique dentaire	CAVALIÉ.

MM. LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUBECQ.	Chirurgie générale	CHARRIER.
id.	DUFOUR.	id.	LOUBAT.
Physiologie	FABRE.	Obstétrique	RIVIÈRE.
Médecine générale	DAMADE.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX.
id.	PIÉCHAUD.	Physique médicale	WANGERMEZ
id.	DELMAS-MARSALET.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.	DE GRAILLY.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	FONTAN.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	VITTE.

COURS COMPLÉMENTAIRES

	MM.		MM.
Médecine opératoire	PAPIN.	Puériculture	FAUGÈRE.
Physiologie	FABRE.	Pharmacie chimique	VITTE.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Accouchements	PERY.		

Ophtalmologie ..... MM. CABANNES (en congé).
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. N.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PÈRE

Le Colonel BROUSSE

en retraite

A MA MÈRE

En témoignage de mon affection.

A MES ONCLE ET TANTE, COUSINE ET COUSIN

A MON PARRAIN

le Général RICHARD

A Monsieur le Docteur MOUREAU

Assistant au Laboratoire de médecine expérimentale à la Faculté de médecine.

A Monsieur le Docteur AUBAC

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Bordeaux
et au Dispensaire de la Compagnie des chemins de fer P.O.-Midi,

Qui nous a largement ouvert son laboratoire de la Compagnie P.O.-Midi.

A Monsieur le Docteur A. LEGER

Médecin colonel des Troupes coloniales en retraite,
Ancien directeur de l'Institut Pasteur de Dakar,
Chef du service prophylactique à la Compagnie des chemins de fer P.O.-Midi,

Qui s'est toujours mis aimablement à notre disposition pour les renseignements cliniques dont nous avions besoin.

A Monsieur le Docteur SERVANTIE

Docteur en médecine et en pharmacie,
Chef adjoint du laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André,

En témoignage de remerciement pour l'aimable accueil qu'il nous a toujours réservé, et ses conseils, qui nous ont grandement aidé dans la réalisation de notre travail.

A Monsieur le Docteur DESQUEYROUX

Médecin de l'Hôpital Saint-André,

Qui a bien voulu nous permettre de travailler dans son laboratoire.

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

AUX MEMBRES DE MON JURY DE THESE

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur AUBERTIN

Professeur de médecine expérimentale à la Faculté de Bordeaux,
Médecin des hôpitaux.

Mon cher Maître,

J'apprécie hautement l'honneur que vous m'avez fait, d'abord en acceptant de me donner ce sujet de thèse, aujourd'hui en présidant celle-ci. Permettez-moi de vous en remercier et de vous exprimer toute ma reconnaissance pour le bienveillant accueil que vous m'avez réservé dans l'accomplissement de mon travail.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA VALEUR COMPARATIVE DE DIVERSES MÉTHODES DE SÉRODIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

PLAN DU TRAVAIL

Notre travail comprend une introduction et six chapitres, nos conclusions et une bibliographie.

INTRODUCTION.

CHAPITRE I. — *Généralités.*

I. — Historique.
II. — Principe de la réaction de Bordet-Gengou.
III. — Conditions expérimentales de la réaction de Bordet-Gengou. Chauffage du sérum.
IV. — Application de la réaction de Bordet-Gengou au diagnostic de la Σ.

CHAPITRE II. — *Les théories.*

I. — Mécanisme intime de la réaction de B.-W.
II. — Constitution de l'antigène.
III. — Influence du milieu de dilution.
IV. — Nature de la réagine Σ, élément actif des antigènes.
V. — Théories nouvelles sur la nature du sérum sanguin (Lecomte du Noüy).

Chapitre III. — *Les techniques.*

I. — Etat actuel du sérodiagnostic de la Σ.
II. — Réactions de fixation du complément.
A. Méthodes au sérum chauffé :
a) Mécanisme de l'inactivation du complément;
b) Avantages et inconvénients des méthodes au sérum chauffé.
B. — Méthodes au sérum frais. Avantages.
III. — Réactions de floculation. Généralités.
IV. — Réaction de Vernes. Principe. Critique de la syphilimétrie.
V. — Réactions d'opacification : Dujarric de La Rivière et Meinicke-Mutermilch.
A. — Réaction de Dujarric de La Rivière.
B. — Réaction de Meinicke-Mutermilch. Causes d'erreur.
VI. — Réaction de Kahn.
VII. — Réaction de Bordet-Robyn.

Chapitre IV. — *Techniques utilisées.*

I. — Réaction de Vernes.
II. — Réaction d'opacification de Meinicke-Mutermilch.
III. — Réaction de Kahn (standard).
IV. — Réaction de Bordet-Robyn.
V. — Réaction de Hecht.

Chapitre V. — *Etudes comparatives antérieures.*

Chapitre VI. — *Recherches personnelles.*

I. — Réactions pratiquées en vue du diagnostic de la Σ.
II. — Contrôle du traitement par les réactions sérologiques.
III. — Spécificité des réactions de Hecht, Kahn et Meinicke.
IV. — Contrôle du traitement et de la guérison.

Conclusions.

Bibliographie.

INTRODUCTION

Par ses effets sur l'individu et sur la collectivité, la syphilis constitue un véritable fléau social qui, depuis longtemps et à juste titre, préoccupe les hygiénistes, et contre lequel ceux-ci luttent avec un succès qui grandit tous les jours.

Parmi les méthodes de laboratoire, une seule, à l'origine, s'est montrée susceptible d'une application pratique : c'est la méthode de fixation du complément, imaginée en 1901 par Bordet et Gengou, et qui fut appliquée à la syphilis quelques années plus tard par Wassermann, Neisser et Brück.

Cependant, les résultats ne correspondirent pas entièrement aux espérances de leurs auteurs, et ce n'est qu'après de multiples modifications que la méthode entra dans la pratique courante.

C'est à l'Ecole bordelaise que revient l'honneur d'avoir introduit en France la réaction de Wassermann; les premiers travaux sur cette dernière ont été publiés par le Professeur Mauriac.

D'autre part, des études d'apparence purement spéculative, sur le mécanisme intime de la réaction de fixation, ouvrirent de nouvelles voies, qui aboutirent aux méthodes de floculation, en particulière faveur chez les sérologistes modernes.

A l'heure actuelle, un très grand nombre de méthodes sérologiques prétendent fournir le diagnostic de la syphilis. Que faut-il penser de leur valeur pratique? Une conclusion *a priori* paraîtrait imprudente.

C'est dans cet esprit que le service d'hygiène de la Société des Nations a réuni plusieurs conférences internationales, au

cours desquelles un certain nombre de sérums ont été examinés par différents tests. Un nombre restreint de méthodes ont retenu définitivement l'attention.

Nous nous sommes attaché, dans notre travail, à comparer diverses réactions entre elles, au double point de vue de la sensibilité et de la spécificité.

Nos recherches ont porté sur :

1° la réaction de Hecht;
2° la réaction de Meinicke-Mutermilch;
3° la réaction de Kahn;
4° la réaction de Vernes;
5° la réaction de Bordet-Robyn.

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

I. — *Historique.*

La découverte de l'agent spécifique de la Σ dans la sérosité du chancre remonte à 1905; elle est due à Schaudinn et Hoffmann.

Cette découverte permettait d'entrevoir la possibilité d'une simplification du diagnostic de la maladie. L'expérience montra cependant que la recherche directe de l'agent pathogène ne pouvait se faire, pratiquement, qu'au cours de deux phases de la maladie :

1° dans le cas de chancre primitif, où il est facile de le mettre en évidence;

2° dans le cas de lésions de la période secondaire : plaques muqueuses et syphilides secondaires, qui recèlent le tréponème de façon constante, mais, généralement, en petit nombre.

En somme, il est assez rare qu'on puisse porter un diagnostic d'après l'observation directe de l'agent pathogène; aussi a-t-on adopté une autre solution, qui réside dans la recherche des modifications humorales provoquées par l'infection.

Une maladie microbienne détermine généralement, en dehors de ses manifestations pathologiques, une série de modifications des propriétés du sérum sanguin.

Certaines d'entre elles, les seules qui nous intéressent, sont spécifiques de l'agent infectant.

Le premier phénomène de ce genre fut observé par Bordet : l'addition de sérum anticholérique à une culture de vibrions cholériques fait subir à ces derniers une série de modifications aboutissant à leur lyse. Ce phénomène est connu sous le nom de phénomène de Pfeiffer.

Quand on remplace, d'une part, le sérum anticholérique par le sérum d'un sujet auquel on a injecté des hématies d'une espèce animale étrangère, et, d'autre part, les vibrions cholériques par les hématies de cette espèce animale, on observe la lyse des hématies : ce dernier phénomène constitue l'hémolyse.

Si l'on répète l'expérience sur la bactériolyse du vibrion cholérique, en chauffant préalablement le sérum anticholérique à 55 degrés pendant 30 minutes, on constate que le phénomène de Pfeiffer ne se manifeste pas. Si l'on ajoute au mélange une goutte d'un sérum quelconque frais, la bactériolyse se produit aussitôt.

Metchnikoff et Bordet en déduisirent que le phénomène bactériolytique est dû à l'action combinée de deux substances : la première, qui est thermolabile (disparaît à 55 degrés), existe dans tout sérum, même normal; Ehrlich lui a donné le nom de complément. La seconde, qui est thermostabile (résiste à 55 degrés), n'existe que dans les sérums immunisés. Bordet l'appelle sensibilisatrice. Quant au microbe ayant provoqué l'immunisation, il a reçu le nom d'antigène (l'antigène peut être également une albumine ou des hématies qui engendrent des sensibilisatrices correspondantes).

Le mécanisme de la bactériolyse serait dû à la fixation de la sensibilisatrice sur l'antigène, qui, alors, devient apte à subir l'action destructive du complément. Bordet compare la sensibilisatrice à un mordant qui se fixerait sur une étoffe et la rendrait apte à être colorée par une teinture.

La bactériolyse permet donc d'identifier l'agent immunisant d'un sérum à l'aide d'un antigène connu. Mais le phéno-

mène qu'elle met en jeu est parfois difficilement observable Aussi n'a-t-on pas pu fonder sur lui une méthode pratique de séro-diagnostic.

On a vu que c'est au complément qu'appartient le pouvoir lytique; mais ce pouvoir ne peut s'exercer sur l'antigène que si ce dernier a été en quelque sorte mordancé par la sensibilisatrice spécifique. Si l'antigène n'a pas été mordancé, et c'est le cas d'un sérum normal, le complément se retrouvera inaltéré à l'état libre. Si, au contraire, l'antigène a subi l'action de la sensibilisatrice (cas d'un sérum immunisé), le complément est consommé dans la réaction et disparaît.

En partant de ces considérations, Bordet et Gengou ont eu l'idée d'objectiver la bactériolyse en essayant d'engager le complément dans une seconde réaction, dont le résultat soit facilement observable, et ils se sont arrêtés à la réaction hémolytique, qui paraît le mieux remplir ces conditions.

II. — *Principe de la réaction de Bordet-Gengou.*

La réaction comporte deux temps : dans le premier temps, on met en présence le sérum suspect avec l'antigène (émulsion microbienne); on place le mélange à l'étuve de façon que la fixation puisse se produire s'il y a lieu.

Dans le deuxième temps, on met en œuvre une réaction d'hémolyse au moyen d'un antigène (hématies) et d'une sensibilisatrice hémolytique.

Si la première réaction a été positive, le complément est consommé, et, par suite de son absence, la réaction hémolytique ne se produit pas. L'absence d'hémolyse caractérise donc les réactions positives.

Si, au contraire, la première réaction a été négative, le complément, resté à l'état libre, dissout les hématies sensibilisées par la sensibilisatrice correspondante, et l'hémolyse, caractéristique des réactions négatives, se manifestera.

En un mot, l'hémolyse sert de réactif indicateur.

III. — *Conditions expérimentales de la réaction de Bordet-Gengou. — Chauffage du sérum.*

Pour avoir une valeur diagnostique, la réaction nécessite diverses précautions; un dosage rigoureux des éléments entrant en réaction est tout spécialement indispensable.

On sait que le sort de la réaction dépend du complément : s'il se fixe sur l'ambocepteur spécifique, la réaction est positive. Si, au contraire, il se fixe sur l'ambocepteur hémolytique, la réaction est négative. Or, le sérum sanguin contient une proportion très variable de ce complément.

Soit un sérum positif et contenant une forte proportion de complément. Quand on engage la réaction, la sensibilisatrice se fixe sur l'antigène, lequel est alors détruit par le complément; mais cette lyse n'exige que la quantité de complément strictement nécessaire pour la produire; le reste est en excès. Lors du deuxième temps (réaction hémolytique), ce reste, qui est libre, va dissoudre les hématies sensibilisées et donner une réaction faussement négative.

Inversement, avec un sérum très pauvre en complément, il se peut que la quantité de ce dernier soit trop faible pour permettre l'hémolyse dans le second temps; le résultat sera alors faussement positif.

Pour éviter ces erreurs, on emploie, dans la pratique, le sérum chauffé pendant 30 minutes à 55° C.; la sensibilisatrice spécifique reste alors intacte, mais le complément étant inactivé, on le remplace par du sérum de cobaye, contenant une quantité déterminée de complément.

C'est avec cette modification que Bordet et Gengou présentèrent leur réaction sous le nom de « réaction de fixation du complément », qu'on désigne parfois aussi, à tort, sous le titre de « réaction de déviation du complément ».

Cette méthode a été étendue au diagnostic de nombreuses maladies microbiennes, comme la fièvre typhoïde, la dysenterie, la fièvre de Malte, et même à des affections parasitai-

res, tel le kyste hydatique; mais elle est surtout connue, en tant que méthode de diagnostic de la Σ, sous le nom de « réaction de Bordet-Wassermann ».

IV. — *Application de la réaction de Bordet-Gengou au diagnostic de la syphilis.*

Pour la recherche d'une sensibilisatrice microbienne, la réaction de Bordet-Gengou nécessite un antigène constitué par une émulsion de corps microbiens. La mise en évidence de la sensibilisatrice Σ exige donc une culture de tréponèmes; or, on n'en disposait pas encore à l'époque où Bordet et Gengou ont commencé leurs travaux; cette culture n'a pu, en effet, être préparée que vers 1909 par Schereschewsky, Mühlens et Noguchi, et encore non d'une manière courante.

Wassermann et Brück avaient déjà démontré en 1905 que les microbes pouvaient être remplacés par leur extrait aqueux. Ces deux auteurs, en collaboration avec Neisser, utilisèrent comme antigène un extrait aqueux de foie de fœtus H.-Σ, qui, comme on le sait, est très riche en tréponèmes, et c'est ainsi que fut présentée la première méthode sérologique de diagnostic de la Σ, basée sur la réaction de Bordet-Gengou. Les résultats obtenus étaient rien moins que rigoureux : une série de recherches, pratiquée en 1906, ne donna que 49 réactions positives, sur un total de 257 cas de Σ confirmée par la clinique. Mais, par une poursuite méthodique du perfectionnement de la méthode, on atteignit une proportion de 88 p. 100 de résultats positifs (Congrès de Berlin, 1907).

Pendant que certains sérologistes mettaient au point la partie technique, d'autres cherchaient à en pénétrer le mécanisme intime. Des objections ne tardèrent pas à s'élever contre la conception immunologique de la réaction. Levaditi et Marie avaient constaté la possibilité de remplacer le foie de fœtus H.-Σ par du foie normal, mettant ainsi en doute la spécificité de l'antigène. Bien plus, les mêmes auteurs remar-

quèrent que le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux ne détruisait, ni même n'atténuait, *in vitro*, la virulence du tréponème. L'existence d'une sensibilisatrice était donc niée.

On essaya alors de nombreuses substances pour la préparation des antigènes : extrait alcoolique d'organes humains ou animaux, extraits végétaux, et même des mélanges chimiquement définis, tels que ceux de Sachs et de Desmoulières (solution de cholestérol, de lécithine et de savons). En somme, l'origine des colloïdes importe peu, seule la grosseur de leurs micelles semble avoir de l'influence.

A l'heure actuelle, on admet que la réaction de Bordet-Wassermann est de nature physico-chimique; la « réagine » n'est pas une sensibilisatrice, mais un complexe chimique provenant de la destruction des tissus sous l'influence de l'infection Σ.

CHAPITRE II

LES THEORIES

I. — *Mécanisme intime de la réaction de Bordet-Wassermann.*

La conception de la réaction de fixation du complément, selon les principes immunologiques de Bordet-Gengou, fut battue en brèche par Levaditi et Marie. Cependant, en raison de la précision des diagnostics qu'elle fournissait, la nouvelle méthode prenait finalement une place prépondérante dans la sérologie. Il n'en restait pas moins, entre l'exactitude des résultats fournis et les bases fausses sur lesquelles repose la réaction, un antagonisme qui a suscité de nombreuses recherches pour en expliquer le véritable processus.

Jacobsthal, en 1909, avait remarqué que l'addition d'antigène à un sérum Σ fait naître un floculat colloïdal visible à l'ultra-microscope, alors qu'on n'observe rien dans le cas d'un sérum normal. C'est l'apparition de ce floculat qui semble conditionner la marche de la réaction. Il est permis de penser que le complément est adsorbé par ce floculat, d'où absence d'hémolyse dans les réactions positives; on en déduit, en conséquence, que la réaction aurait pour base la rupture d'un état colloïdal.

II. — *Constitution de l'antigène.*

L'antigène de Bordet-Ruelens [1], le plus employé, aurait, selon Chevrel-Bodin, la composition suivante :

Lipides : Lécithine, éthers de cholestérol, traces de cholestérol libre.

(1) L'antigène de Bordet-Ruelens est un extrait alcoolique de cœur de veau préalablement épuisé par l'acétone.

Albumines : Non entraînées au cours des précipitations successives par l'alcool ou l'acétone.

Savons : Provenant de la saponification des éthers du cholestérol.

On sait que les antigènes sont employés sous forme de suspensions; aussi le rôle du milieu de dilution est-il prépondérant, car c'est lui qui conditionne la grosseur des colloïdes et leur stabilité.

III. — *Influence du milieu de dilution.*

Quand on dilue l'antigène avec de l'eau distillée, on obtient un complexe comportant, d'après Chevrel-Bodin, deux phases :

1° Une phase dispersée : micelles et molécules polarisées adsorbant les particules du disperseur;

2° Une phase dispersante composée des albumines de l'antigène et des savons.

L'équilibre électrique de l'ensemble est assuré par l'albumine, qui forme un film protecteur autour des granules, et par les savons, qui abaissent la tension superficielle; une émulsion est, en effet, d'autant plus stable qu'elle contient plus de savons, et les savons sont d'autant plus abondants que la réaction du milieu est plus fortement alcaline. D'où il résulte que la stabilité est fonction de l'alcalinité du milieu.

Pour alcaliniser le milieu, on ne peut songer à utiliser un hydroxyde alcalin, qui élèverait le pH à un point tel qu'aucun sérum Σ ne floculerait, ces derniers cessant de floculer au-dessus de pH 8,8.

L'hydroxyde étant inutilisable, on s'adresse à ses sels, en l'espèce ClNa, qui convient le mieux. Toutefois, s'il apporte un pH convenable, il précipite les savons, ce qui nuit à la stabilité du système colloïdal. Aussi doit-il être utilisé en pro-

portion telle qu'il compense la rupture d'équilibre par ses propres charges.

Quelle dose de ClNa convient-il d'employer ? L'expérience va le dire : on prépare des émulsions antigéniques avec des solutions de ClNa, au taux croissant de 0 à 100 g. p. 1.000. On

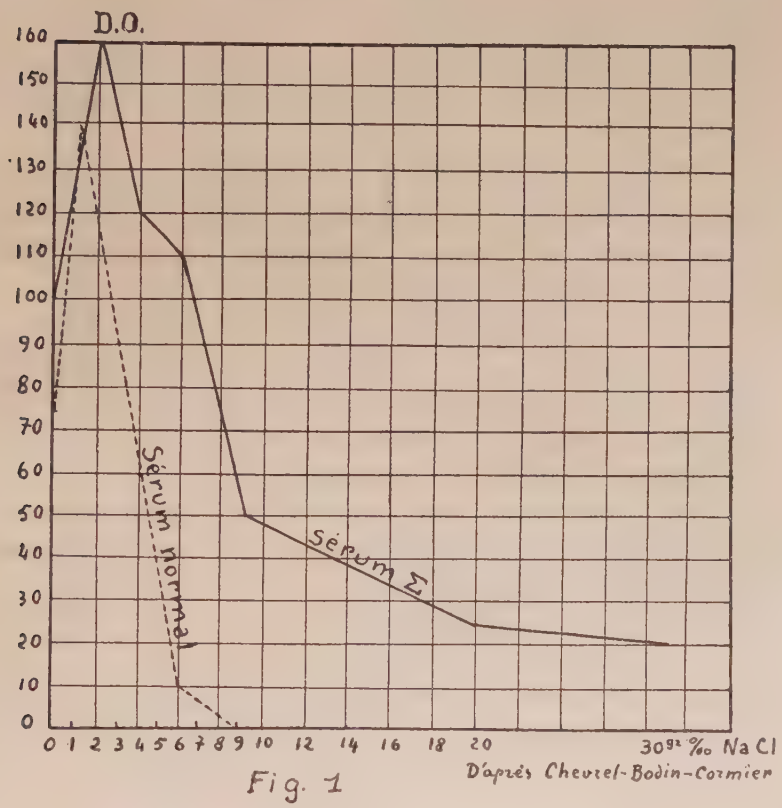


Fig. 1

éprouve chacune d'elles avec un sérum normal et un sérum Σ. Après un séjour convenable à l'étuve, on lit la densité optique au photomètre de Vernes, et l'on trace la courbe des variations de densité optique en fonction de la concentration en ClNa (fig. 1).

La courbe montre que, pour une concentration comprise entre 0 et 9 p. 1.000 de ClNa, le sérum normal floculе tout

comme le sérum Σ. A partir de 9 p. 1.000, seul le sérum Σ donne une floculation. C'est pour cette concentration que la réaction est devenue sélective et permet de différencier le sérum Σ du sérum normal.

Les auteurs pensent que la floculation des sérums normaux, avec des émulsions dont le taux en ClNa est < 9 p. 1.000, serait due à deux facteurs :

1° La précipitation des globulines des sérums normaux par l'eau distillée ou avec des solutions faiblement concentrées en ClNa;

2° L'action propre de ClNa, qui, précipitant les savons, élève la tension superficielle et modifie l'équilibre des charges de l'émulsion antigénique sans pouvoir, à cause de son faible taux, contre-balancer cette perturbation.

Quant à la différence d'allure entre les courbes du sérum normal et du sérum Σ, elle serait due, d'après Lecomte du Noüy, à leurs tensions superficielles différentes. Celui-ci a, en effet, démontré que la tension superficielle d'un sérum varie quand il contient des anticorps.

On voit donc dans quelles conditions se produit le floculat qu'avait entrevu Jacobsthal, et qui conditionne la réaction en adsorbant le complément.

Mais Chevrel, Bodin et Cormier ont montré, de leur côté, que, contrairement aux réactions de précipitation, il n'est pas nécessaire que le grossissement des granules atteigne le stade de précipitation pour rendre la réaction positive; une agglutination très faible de l'antigène suffit à fixer le complément, ce phénomène étant irréversible.

Le mécanisme de la réaction de Bordet-Wassermann semble, dès lors, s'apparenter non pas à la théorie immunologique de Bordet-Gengou, mais plutôt à un processus physico-chimique encore incomplètement connu.

IV. — *Nature de la réagine syphilitique, élément actif des antigènes.*

a) Elément actif des antigènes.

On vient de voir que les réactions positives auraient pour base une modification de la tension superficielle des sérums pathologiques.

Quelle est la nature chimique des substances pouvant déceler une telle modification ?

Des recherches particulièrement intéressantes ont été entreprises à ce sujet par C. L. Ducco (de Buenos-Ayres), à l'occasion d'études poursuivies sur sa méthode personnelle. Pour cet auteur, l'élément actif des antigènes est la lécithine (Desmoulières pense, au contraire, que c'est le cholestérol), qui aurait la propriété de donner avec les albumines sériques des combinaisons complexes, ou « lécithine-albumine », insolubles dans l'eau.

Si, à un sérum normal ou Σ, on ajoute une émulsion de lécithine, on n'obtient pas de floculation, le composé ainsi formé se maintenant en suspension colloïdale grâce aux albumines du sérum. La floculation ne se produirait qu'en ajoutant une quantité de lécithine telle qu'elle puisse se combiner avec la totalité de l'albumine.

Si, maintenant, on ajoute une certaine quantité de cholestérol à la lécithine, on remarque que le floculo-réactif ainsi constitué est capable de donner, avec les sérums, un floculat, même en présence d'un excès d'albumine. Le réactif s'est combiné par sa lécithine avec l'albumine pour donner un composé précipitable, appelé par l'auteur « lécithine-albumine-cholestérol ». Le principe actif (précipitant) des antigènes semble donc être la lécithine. Le cholestérol n'est qu'un adjuvant; son rôle aurait pour effet d'empêcher la désintégration des floculats de « lécithine-albumine », lorsque l'albumine est en excès. Il rend, en somme, la réaction irréversible. C'est ainsi que pourrait s'expliquer l'action sensibilisante qu'il remplit dans divers antigènes floculants (Sachs-

Georgi, Kahn, Müller). Quant au mécanisme intime de son action, il est assez obscur, et on en est réduit aux hypothèses.

b) Nature de la réagine syphilitique.

D'après Ducco, la floculation obtenue avec les sérums Σ serait due à la présence dans ces sérums d'une albumine qui n'existe pas dans le sérum normal.

L'auteur a essayé d'identifier la réagine en étudiant la courbe de floculation que donnent, avec son antigène (solution alcoolique de lécithine et cholestérol), un sérum normal et

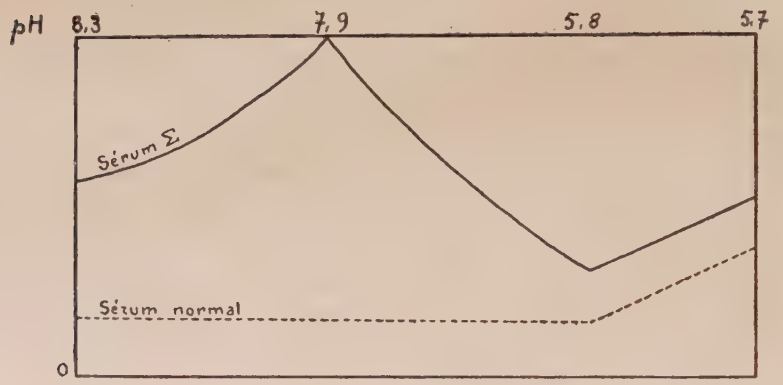


Fig. 2 D'après C-L. Ducco

un sérum Σ en fonction du pH du milieu. Il opère sur une échelle de pH obtenue avec des solutions tampons (phosphate disodique M/3 et phosphate monopotassique M/3 en proportions variables). Il prend 2 séries de 11 tubes, dans chacune d'elles il place :

Solution tampon	1 cc.
Sérums	0,2 cc.
Suspension d'antigène au 1/5.....	1 cc.

Le sérum normal est utilisé pour une série, le sérum Σ pour l'autre série. Après vingt-quatre heures de séjour à 37 degrés, on lit la densité optique au spectrophotomètre de polarisation de Crova, et on transcrit les résultats sous forme d'une courbe (fig. 2). On constate que le sérum normal

n'a pas floculé entre pH 8,3 et 5,8, alors que le sérum Σ donne une courbe de floculation avec un maximum à pH 7,9 (D.O. = 0,15).

Ducco a démontré dans des travaux antérieurs que son antigène (cholestérol-lécithine) est un réactif neutre, c'est-à-dire que son action floculante maxima est au point iso-électrique de l'albumine (pHi).

L'antigène en question permet donc de découvrir dans le sérum Σ une albumine dont le pHi est aux environs de 8. L'auteur signale, sans d'ailleurs conclure, que c'est le pHi du fibrinogène.

V. — *Théories nouvelles sur la nature du sérum sanguin.*

La plupart des travaux entrepris pour l'étude physico-chimique du sérum sanguin reposent sur un principe fondamental : le sérum est constitué par des micelles colloïdales d'albuminoïdes en suspension dans l'eau salée. Dans cette hypothèse, un certain nombre de propriétés physiques du sérum étaient cependant restées sans explication.

A la suite des travaux qu'il avait poursuivis, tant à l'Institut Pasteur de Paris qu'à l'Institut Rockfeller de New-York, Lecomte du Noüy vient de jeter la lumière sur les points obscurs en remplaçant la théorie colloïdale, jusqu'ici classique, par une nouvelle conception, selon laquelle le sérum serait une solution vraie d'albuminoïdes moléculairement dispersés.

Une telle hypothèse bouleverse complètement les conceptions antérieures sur le milieu vital, et semblerait hasardeuse si les affirmations de l'auteur n'étaient pas la conséquence de faits expérimentaux rigoureusement prouvés.

A l'hypothèse classique du sérum colloïdal, Lecomte du Noüy oppose donc celle du sérum moléculairement dispersé. Dans la théorie colloïdale, les propriétés des constituants du sérum sanguin seraient dues à leur état micellaire, les

dimensions des micelles jouant un rôle prépondérant, tandis que, dans la nouvelle conception, elles découleraient de leurs propriétés chimiques et physico-chimiques. La spécificité chimique est ainsi admise, alors qu'elle ne l'était pas dans l'hypothèse colloïdale. Pour employer une métaphore, on pourrait comparer l'état colloïdal à des individus vivant étroitement groupés en colonies, renonçant à toute initiative individuelle et n'obéissant qu'aux lois communes. L'état moléculaire, au contraire, serait assimilable à des individus autonomes, vivant isolément et donnant libre cours à leurs facultés individuelles, qui symbolisent les propriétés chimiques.

Pour justifier l'existence de molécules de sérum, Lecomte du Noüy s'appuie sur trois phénomènes :

1° Le phénomène essentiel est constitué par le *minimum absolu de tension superficielle* du sérum dilué dans de l'eau physiologique. Ce minimum s'observe en mesurant la tension superficielle statique d'une solution au 1/10.000 de sérum dans de l'eau physiologique, à condition que cette dilution soit placée dans un récipient tel que le rapport $\frac{\text{surface}}{\text{volume}}$ soit égal à 13,2. L'épaisseur de la couche de protéine adsorbée est alors d'environ 4 mμ (40 angströms).

Si l'on fait varier la surface tout en gardant un volume constant (donc un même nombre de molécules), la tension superficielle variera.

Par des variations simultanées du volume et du rapport surface/volume, on peut retrouver le minimum déjà observé à la seule condition d'offrir la même surface d'adsorption au même nombre de molécules.

L'explication du phénomène n'est possible que « si chaque molécule occupe toujours le même espace dans la même position, autrement dit si elle est capable de s'orienter en couches monomoléculaires, en couches organisées géométriquement comme une mosaïque régulière. »

2° *Anomalies dans la vitesse d'évaporation des solutions diluées de sérum.* — En faisant évaporer dans des conditions identiques une série de dilutions de sérum avec de l'eau physiologique dans un vase tel que le rapport S/V soit égal à 13,2, on constate que la dilution au 1/10.000 s'évapore plus lentement que les autres. L'auteur attribue cette anomalie à l'existence, pour cette concentration, d'une couche moléculaire orientée retardant l'échappement des molécules d'eau.

3° *Aspect des cristaux de* ClNa *après évaporation.* — Si l'on évapore du sérum immunisé, dilué au 1/11.000 dans l'eau physiologique, dans un vase tel que surface/volume soit égal à 13,2, on observe que les cristaux de ClNa ont une forme différente de ceux provenant de toute dilution à un autre titre; ils ont l'aspect d'arêtes de poissons, « qui indique la présence de forces capables d'orienter les molécules; l'explication du phénomène ne peut se trouver que dans un état d'orientation des molécules adsorbées ».

Tous ces phénomènes resteraient obscurs si l'on considérait le sérum comme une solution colloïdale, c'est-à-dire formée de micelles isotropes, non polaires, incapables de s'orienter. En fait, ils sont à la base de l'hypothèse du sérum moléculairement dispersé, car ils justifient l'existence de « molécules de sérum polaires, orientables, adsorbables en couches monomoléculaires aux interfaces ».

Dans une deuxième série de travaux, Lecomte du Noüy s'est attaché à démontrer la présence de molécules asymétriques susceptibles d'hydratation intramoléculaire irréversible. Cette hypothèse se trouve justifiée par l'étude de l'accroissement du pouvoir rotatoire avec la température.

L'expérience montre que « lorsqu'un sérum est chauffé en vase clos à des températures égales ou supérieures à 55 degrés, son pouvoir rotatoire augmente de façon sensiblement proportionnelle à l'augmentation de température ». Le phénomène ne peut être dû qu'à une hydratation.

Si l'on admet la théorie colloïdale, cette hydratation se

fait par fixation d'eau à la périphérie des micelles, ce qui n'explique nullement l'augmentation du pouvoir rotatoire, lequel, comme on le sait, est dû à une augmentation de la dissymétrie moléculaire. Le seuil de 55 degrés reste également inexpliqué.

L'hypothèse moléculaire fournit, au contraire, une explication très rigoureuse : l'hydratation, au lieu de se faire par fixation périphérique de l'eau, se produit à l'intérieur même de la molécule; pour pénétrer dans celle-ci, l'eau a besoin d'une certaine énergie cinétique, qui lui permette de vaincre les forces de cohésion; or, cette énergie est fonction de la température, et ce n'est qu'à partir d'un certain degré qu'elle est suffisante pour permettre à l'eau de forcer l'entrée. L'expérience montre que cette température est 55 degrés.

Telle est, d'après Lecomte du Noüy, l'explication du seuil de 55 degrés, à partir duquel le pouvoir rotatoire commence à augmenter.

Après sa pénétration, l'eau se fixe sur les groupes chimiques dont l'ensemble constitue la molécule, fait subir à celle-ci un gonflement et, par suite, une déformation.

L'auteur admet également que l'eau rend optiquement actifs certains groupements jusque-là inactifs. C'est ce double processus qui permet d'expliquer l'augmentation du pouvoir rotatoire.

Lecomte du Noüy représente la molécule qui s'hydrate par une spirale qui se détord, changeant ainsi de symétrie, alors que l'hydratation superficielle d'une micelle est comparable à un cylindre qui augmente de diamètre tout en conservant sa symétrie.

L'hypothèse de l'hydratation interne de la molécule, si féconde soit-elle, n'en est pas moins une simple vue de l'esprit, et serait dénuée de valeur si elle n'était vérifiée par l'expérience. La preuve en est fournie par l'accroissement de la viscosité du sérum au delà de 57 degrés : « Cette viscosité diminue régulièrement parallèlement à la diminution de la viscosité de l'eau jusque vers 55-56 degrés et augmente régulièrement ensuite. »

L'hydratation des protéines peut seule expliquer cet accroissement de viscosité, si l'on se base sur le principe énoncé par Einstein, selon lequel « la viscosité d'une suspension ou d'une solution ne dépend pas de l'état de dispersion ou d'agrégation de la substance dissoute, mais uniquement du rapport du volume de celle-ci au volume du solvant ».

Soit une solution de concentration constante; la viscosité ne peut augmenter que par diminution du volume du solvant ou augmentation du volume de la substance dissoute. Si, dans le cas envisagé, on admet que la substance dissoute s'est hydratée, son volume se sera accru de la quantité dont aura diminué le solvant, ce qui justifie l'augmentation de viscosité montrée par l'expérience.

Le sérum sanguin est donc composé de molécules vraies. Comme conséquence des bases fausses sur lesquelles il s'était développé, le séro-diagnostic de la Σ a suscité les travaux les plus divers pour élucider sa véritable nature. Très rapidement la biologie fut évincée de son domaine par la physico-chimie, qui, jusqu'aux retentissants travaux de Lecomte du Noüy, essaya d'expliquer la réaction par les phénomènes colloïdaux encore admis par la majorité des auteurs.

La théorie immunologique ne s'est pourtant pas considérée comme définitivement battue. Elle semble même vouloir reprendre ses positions à la suite d'études faites par Sachs à l'Institut, pour l'étude du cancer, d'Heidelberg. Sachs serait arrivé à des conclusions formelles : les modifications qui se poursuivent dans le sang des syphilitiques consistent réellement en une formation d'anticorps, c'est-à-dire en une réaction d'immunité contre les lipides.

Quoi qu'il en soit, et bien que les conceptions actuelles soient fort éloignées de la théorie originelle de Bordet-Gengou, il n'en reste pas moins que ce sont les travaux de ces deux auteurs qui ont permis à Wassermann de réaliser sa réaction. Il était donc juste d'appeler celle-ci « réaction de Bordet-Wassermann ».

CHAPITRE III

LES TECHNIQUES

I. — *Etat actuel du séro-diagnostic de la syphilis.*

Les méthodes actuellement utilisées pour le diagnostic sérologique de la Σ appartiennent à deux grandes classes :

1° Les méthodes de fixation du complément, directement issues de la réaction de Bordet-Wassermann, et qui sont pratiquées soit d'après la technique originelle au sérum chauffé, soit, selon la tendance nouvelle, en utilisant le complément et l'hémolysine naturels du sérum employé à l'état frais;

2° Les méthodes de floculation qui prennent une place de plus en plus prépondérante, et dont le principe repose sur la labilité des albumines des sérums syphilitiques qui sont précipitées par divers réactifs.

II. — *Réactions de fixation du complément.*

D'innombrables modifications ont été apportées à la méthode originelle de Bordet-Wassermann. Elles ne visent généralement pas le principe même de la réaction qui, à l'heure actuelle, est envisagée sous deux aspects :

A. Méthodes au sérum chauffé;
B. Méthodes au sérum frais.

A. — Méthodes au sérum chauffé.

a) Mécanisme de l'inactivation du complément.

Il a été vu précédemment que le sérum frais contient une substance banale qui, théoriquement, se fixe sur l'antigène par l'intermédiaire de la sensibilisatrice spécifique. Ehrlich l'a appelée *complément*. Ce complément existe naturellement en quantités très variables dans le sang.

On a vu également quelles erreurs peuvent occasionner les variations quantitatives de ce complément, dont il y a lieu de se débarrasser par un chauffage de 30 minutes à 56 degrés, qui le détruit sans toucher à la sensibilisatrice spécifique.

Le complément, dont on s'est ainsi débarrassé, est remplacé par une quantité déterminée d'un complément étranger (sérum de cobaye).

Il convient de remarquer que la destruction du complément par chauffage à 56 degrés ne serait pas intégrale; on retrouverait celui-ci sous forme de complémentoïde (Noguchi, Bronfenner, Ehrlich, Gramenitzky).

Pour ce qui concerne sa nature chimique, Noguchi et V. Liebermann pensent que les lipoïdes en seraient les éléments actifs, mais le mécanisme selon lequel il agit serait encore assez obscur.

Seelich a découvert dans les laboratoires de Lecomte du Noüy un phénomène spécial que présente le sérum à la suite d'un chauffage à 56 degrés, à savoir la variation du coefficient de fixation d'éther.

Le sérum frais fixe 700 p. 100 d'éther; après chauffage il n'en fixe plus que 450. Si, à un sérum chauffé, on ajoute quelques gouttes d'un sérum frais, il est de nouveau capable de fixer 700 p. 100 d'éther. C'est le seul phénomène physico-chimique connu qui soit assimilable à la destruction du complément par chauffage à 55 degrés et à sa réactivation par addition de sérum frais.

La théorie de l'hydratation intramoléculaire énoncée par Lecomte de Noüy permet d'expliquer en partie le phénomène, et de le différencier de la destruction irréversible de la sensibilisatrice à 65 degrés.

L'explication repose sur l'observation du spectre d'absorption dans l'ultra-violet : « Au-dessous de 65 degrés, la courbe caractéristique ne subit aucune modification systématique, tandis que celle du sérum chauffé à 65 degrés est déplacée tout entière, et qu'à chaque point correspond un accroissement important d'absorption. »

La destruction (ou plus exactement l'inactivation) du complément serait due à une simple hydratation intramoléculaire (on a vu qu'elle se produit à partir de 55 degrés), qui n'a pas d'influence sur le spectre d'absorption.

L'auteur pense que « le pouvoir complémentaire peut donc, en première analyse, être considéré comme une propriété spatiale, structurale, d'ensemble de groupes chimiques, déplacés par la pénétration de molécules d'eau, ou comme une propriété chimique détruite par la fixation d'eau, par exemple sur les groupes carbonyles. Mais ces phénomènes n'affectent pas ou très peu la courbe d'absorption du sérum ».

La destruction de l'alexine spécifique résulte, au contraire, d'une modification très profonde des molécules, par suite de l'hydratation, d'où il résulte un déplacement de la courbe d'absorption tout entière.

Quant aux modifications chimiques subies par le complément au cours de sa destruction, elles sont encore inconnues.

b) Avantages et inconvénients des méthodes au sérum chauffé.

1° *Avantages.* — Le chauffage du sérum assure la spécificité à la réaction. On a déjà vu dans les généralités sur la méthode de Bordet-Gengou à quelles erreurs peut conduire le complément naturel qui existe en quantités si variables dans le sérum.

Il est évident que l'emploi d'une dose judicieusement déterminée de complément étranger permet d'effectuer la réaction dans des conditions toujours identiques, et de donner une particulière valeur aux résultats fournis, plus spécialement aux résultats positifs.

2° *Inconvénients.* — La sensibilisatrice spécifique n'est détruite qu'à 65 degrés, mais, tout comme le complément, elle subit une hydratation à partir de 55 degrés; aussi peut-on se demander si cette hydratation n'est pas de nature à nuire à la sensibilité de la réaction.

Quelques rares auteurs, Kolmer en particulier, se prononcent pour la négative, mais cette opinion est loin d'être partagée par les sérologistes qui sont à peu près unanimes à reconnaître que le chauffage amoindrit la sensibilité de la réaction, résultat qu'on pouvait prévoir *a priori*.

B. — Méthodes au sérum frais.

Ayant remarqué que le sérum humain contient naturellement une hémolysine antimouton, on fut tenté de l'employer pour la réaction. En 1908, Bauer présenta la première technique utilisant cette hémolysine, mais il n'employait pas le complément naturel, aussi le sérum était-il chauffé à 56 degrés.

Le complément naturel fut enfin utilisé la même année par Hecht, le sérum étant employé à l'état frais, sans chauffage préalable.

La sensibilisatrice spécifique, n'ayant subi aucun chauffage, possède une activité maxima, et donne à la réacion une grande sensibilité. Mais le sérum frais contient une dose très variable de complément, allant, d'après Ronchèse, de 1 à 12. Selon le même auteur, les doses d'hémolysine, encore plus variables, iraient de 1 à 300, mais diminueraient par vieillissement. Dans ces conditions, l'emploi d'une seule dose de sérum figurant dans la technique primitive de Levaditi et Latapie peut conduire à de nombreuses erreurs.

Ronchèse a recherché quelles étaient les doses respectives de complément et d'hémolysine dans une série de 100 sérums. Les résultats sont exprimés en « dose de complément » et « dose de sensibilisatrice » contenues dans 0,2 cm³ de sérum frais.

L'auteur désigne sous le nom de « dose de complément », ce qui correspond à 0,4 cm³ du mélange des sérums d'au moins 4 cobayes mâles, à jeun, et appelle « dose de sensibilisatrice antimouton » ce qui correspond à 0,1 cm³ de sérum antimouton titré (de façon à hémolyser en 30 minutes à 37 degrés 0,1 cm³ de globules de mouton au 1/4 en présence d'une dose de complément, le volume total étant 2 cm³.

Les recherches poursuivies à ce sujet par Ronchèse lui ont montré que beaucoup de sérums possèdent moins d'une unité alexique. Ils peuvent cependant hémolyser les globules de mouton s'ils ont une teneur en hémolysine suffisante. L'hémolyse se produit alors conformément aux lois dites « de suppléance » entrevues en 1909 par Noguchi, qui a montré que la sensibilisatrice hémolytique augmente progressivement l'activité du complément, autrement dit, « la valeur du complément actif est fonction du degré de sensibilisation des globules, et, par conséquent, de la quantité de sensibilisatrice hémolytique mise en œuvre (Ronchèse).

C'est en vertu de cette suppléance de l'hémolysine au complément déficient que les réactions au sérum frais sont possibles. Mais pour qu'elles aient quelque valeur, il est indispensable d'évaluer le pouvoir hémolytique global du sérum, et de n'opérer qu'avec la plus faible dose de sérum capable de provoquer l'hémolyse des hématies de mouton.

Avantages des méthodes au sérum frais.

L'expérience montre que les réactions au sérum frais sont plus sensibles que celles utilisant un sérum préalablement inactivé.

Cette constatation avait été faite par de nombreux sérologistes, en particulier par Sachs, Noguchi, Weinberg. On avait tout d'abord pensé à une simple atténuation de la « réagine » à la suite du chauffage. Mais ayant observé que certains sérums faiblement positifs ne sont pas atténués par le chauffage, alors que d'autres, très fortement positifs à l'état frais, deviennent presque négatifs après inactivation, Busila émit l'hypothèse suivante : il y aurait deux sortes de sensibilisatrices Σ, l'une serait thermostabile, l'autre thermolabile, les deux pouvant exister séparément ou conjointement dans le même sérum.

Leredde et Rubinstein désignent sous le nom de « réactions dissociées » les réactions négatives par la méthode au sérum chauffé et positives par la méthode au sérum frais fournis par un même sang; elles sont dues à la présence exclusive de sensibilisatrice thermolabile.

On pourrait objecter que la réaction positive avec le sérum frais serait due à la destruction du complément du malade par l'antigène seul. Ronchèse, dans une série d'expériences, a démontré l'existence réelle d'une sensibilisatrice thermolabile. A cet effet, il a éliminé le complément naturel en l'engageant dans une réaction de fixation préalable, au moyen de globules humains sensibilisés par du sérum anti-homme, et en réglant sa technique de manière que la fixation soit effectuée dans un temps assez court pour qu'aucune hémolyse ne se produise.

Après centrifugation on obtient le sérum débarrassé biologiquement de son complément naturel, mais conservant à l'état d'intégrité sa sensibilisatrice Σ. Une fois ce résultat obtenu, on pratique la réaction classique de Bordet-Wassermann qui donne un résultat positif, alors que la réaction était négative avec le même sérum préalablement inactivé. Le phénomène n'est donc pas dû à la destruction du complément du malade par l'antigène seul, mais à la présence d'une sensibilisatrice thermolabile. Ronchèse donne une signification clinique à cette sensibilisatrice thermola-

bile. Elle se rencontrerait surtout au début de l'affection, à la fin du traitement ou dans les Σ latentes. En un mot, elle est le symptôme d'une infection légère (Leredde). On la rencontre chez les syphilitiques récemment infectés dans une proportion pouvant aller jusqu'à 42 p. 100 (Eschbach et Duhot).

Conclusion. — Les méthodes au sérum frais ne consistent pas en une simplification de la réaction de Bordet-Wassermann, comme on pourrait le penser à première vue. Leur but, au contraire, est d'augmenter le champ diagnostique de l'épreuve, qui permet de déceler les infections atténuées ou débutantes pour lesquelles les méthodes classiques restent muettes. Mais, pour conserver sa spécificité, un dosage rigoureux du pouvoir hémolytique du sérum est indispensable.

III. — *Réactions de floculation.*

Généralités.

Nous avons vu que la réaction de Bordet-Wassermann a pour cause déterminante un floculat ultramicroscopique qui apparaît dans les cas positifs. On admet que ce floculat, qui avait été entrevu par Jacobsthal, adsorbe le complément et empêche ainsi l'hémolyse, laquelle n'est qu'un réactif indicateur, mais un réactif délicat à utiliser, nécessitant des manipulations nombreuses et sujettes à erreurs.

Aussi, les sérologistes ont-ils essayé d'objectiver directement le floculat de Jacobsthal en vue de simplifier la technique et d'augmenter la spécificité par observation directe d'un phénomène que l'hémolyse sert seulement à objectiver.

Les nombreuses solutions proposées dans ce sens se ramènent à trois types essentiels :

1° *Réactions utilisant un antigène analogue à celui de Bordet-Ruelens.* — La suspension antigénique, préparée dans des conditions strictement déterminées, est mélangée au

sérum à examiner; après une incubation convenable, on observe s'il s'est formé ou non un floculat; généralement cette lecture ne peut se faire qu'à l'aide d'un appareillage optique assez compliqué. A ce type appartiennent les réactions de Vernes et de Dreyer et Ward.

2° *Réactions utilisant un antigène comportant des gommes résines.* — Dujarric de La Rivière avait remarqué que l'addition de teinture d'une résine augmente l'opacité d'un mélange sérum méningococcique + antigène méningococcique, alors qu'avec un sérum normal, le mélange s'éclaircit complètement.

Ce principe fut appliqué à la syphilis par Dujarric de la Rivière lui-même et par Meinicke, qui créèrent ainsi les réactions dites « d'opacification ».

3° *Réactions utilisant un antigène cholestérolé concentré.* — Cet antigène est dilué avec une très petite quantité d'eau physiologique. L'émulsion ainsi obtenue est formée de granulations grossières. On utilise, pour la réaction, les propriétés dispersantes des sérums normaux sur ces granulations, lesquelles sont, au contraire, agglutinées par les sérums Σ. Un agent mécanique comme l'agitation est souvent nécessaire.

A cette catégorie, appartiennent les réactions de Kahn et de Müller.

Nous avons utilisé quatre réactions de floculation :

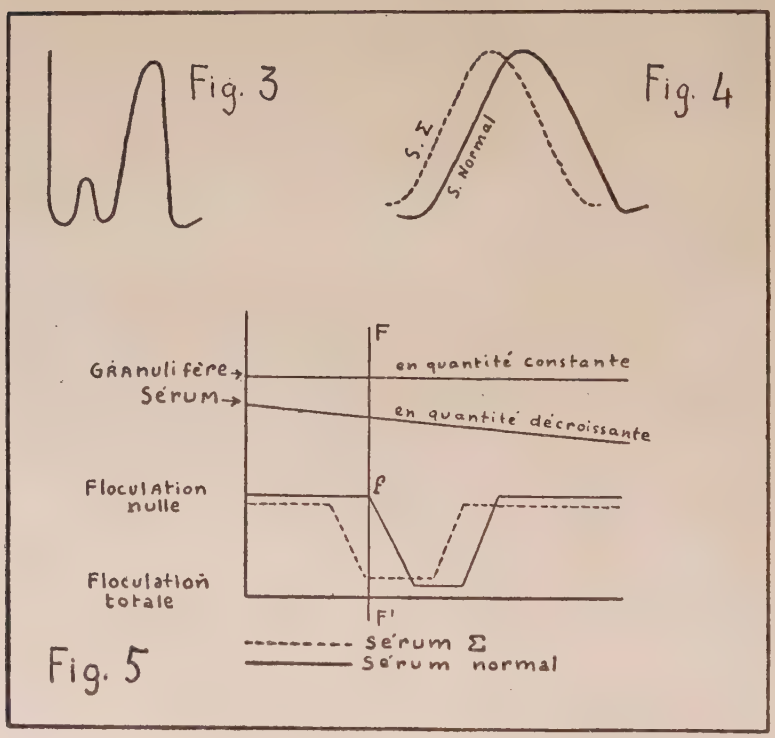
le Vernes;
le Meinicke-Mutermilch;
le Kahn;
le Bordet-Robyn.

IV. — *Réaction de Vernes.*

C'est à la suite de nombreux travaux touchant l'action des suspensions colloïdales sur les sérums que Vernes parvint à mettre au point sa réaction.

Le phénomène sur lequel Vernes s'est basé est celui-ci : tout sérum (normal ou spécifique) flocule lorsqu'on le met en présence de certaines suspensions colloïdales.

« Dans une rangée de 20 petits tubes, on distribue de gauche à droite du sérum normal et un réactif approprié (sulfate de nickel), l'un, le sérum, à la même dose dans tous



D'après Vernes

les tubes, l'autre, le réactif, à doses régulièrement décroissantes. Il se produit une floculation, mais cette floculation n'est pas, comme on pourrait le croire *a priori*, d'intensité uniformément décroissante; elle ne se produit que dans certaines zones de la rangée des tubes. Le tracé sinueux de la figure 3 en montre les variations avec sa descente brusque suivie de deux réascensions passagères... Qu'arrive-t-il si,

au lieu d'un sérum normal, on introduit dans cette expérience un sérum syphilitique? Les maxima et minima ne se produisent plus aux mêmes endroits (courbe analogue à celle de la figure 4).

Pour être susceptible d'applications pratiques, c'est-à-dire pour permettre de diagnostiquer la Σ, le décalage entre la courbe fournie par un sérum normal et celle produite par un sérum spécifique doit être aussi accentué que possible.

On obtient ce résultat en employant une proportion convenable de sérum et une émulsion dont les granules ont un diamètre déterminé.

Après de très nombreux essais, Vernes écarta les suspensions minérales dont les grains sont généralement trop grossiers et s'arrêta à un extrait d'organe. Cet extrait, que l'auteur appelle « péréthynol », est obtenu par extraction alcoolique du myocarde de cheval préalablement épuisé par le perchlorure d'éthylène dans des conditions strictement déterminées. Le produit doit contenir 15 grammes d'extrait sec par litre. Le péréthynol a la propriété de donner, par mélange avec un volume égal d'eau, toute une gamme de suspensions, depuis la suspension transparente (à grains excessivement fins) jusqu'à l'émulsion laiteuse grossière. La grosseur du grain, qui conditionne la sensibilité de la réaction, est fonction de l'agitation et de la vitesse avec laquelle s'effectue le mélange, et aussi de la température. L'expérience a montré quelle grosseur de grains il convenait d'employer; pour l'obtenir d'une façon constante, on utilise un appareil mélangeur électrique.

Le mélange colloïdal étant obtenu, essayons-le avec un sérum Σ et un sérum normal employés à doses décroissantes. Le phénomène de floculation précédemment observé va se produire, et l'on remarque (fig. 5) que, pour une certaine dose (*f*) de sérum, la floculation est nulle avec un sérum normal et totale avec un sérum Σ; cette dose (représentée par (*f*) permet d'apprécier la surfloculence du sérum spécifique, caractéristique de l'infection.

La lecture se fait au moyen du photomètre de Vernes, Bricq et Yvon, qui donne par simple lecture la « densité optique ». Cette densité optique est représentée par le logarithme du rapport du flux de lumière incident au flux de lumière transmis. Toute densité optique supérieure à 3 doit attirer l'attention sur une syphilis probable.

Cette réaction, dont le résultat s'exprime par un chiffre, a été présentée par Vernes non seulement pour détecter l'infection Σ, mais, de plus, pour en mesurer le degré; de là l'idée de syphilimétrie.

La syphilimétrie « traite la Σ comme une maladie invisible au moyen de procédés qui la rendent constamment apparente » — « guérison expérimentalement définie... » — « traitement réglé par la précision des chiffres ». (*Travaux et Publications de l'Institut prophylactique*, fasc. 1, 1922, p. 55.)

Cette conception de la syphilimétrie a fait l'objet de nombreuses critiques.

Bergeron appuie ses objections sur le fait que, pour des Σ latentes, on trouve des densités optiques comprises entre 65 et 126, alors que certaines syphilis secondaires ne donnent parfois que 34 à 36 (*Travaux et Publications de l'Institut prophylactique*, fasc. 2, p. 50 et 51).

Vernes fait alors remarquer qu'il n'a jamais présenté sa réaction comme indiquant la gravité de l'infection, mais simplement son degré. Du fait de la maladie, il circule dans le sang des composés de nature encore obscure auxquels on a donné le nom de « réagine »; cette réagine semble être un produit de désintégration des tissus, du fait de leur contact avec le tréponème; elle circule en quantités souvent très variables, surtout sous l'influence du traitement, et ce sont ces variations qui sont indiquées par le photomètre; de là la nécessité de ne pas se contenter d'un examen isolé, mais d'en pratiquer un grand nombre, et d'en tracer la courbe dont l'aspect permet de porter un diagnostic et de suivre l'évolution de l'infection : une courbe en plateau constamment aux environs immédiats de 0 caractérise l'absence de

syphilis, alors qu'une courbe oscillante est typique de l'infection; ses montées signalant que l'organisme est le siège d'une décharge de réagine. La réaction de Vernes ne mesure donc pas la gravité de l'infection, celle-ci dépend surtout de l'organe atteint et relève du domaine de la clinique; mais par ses courbes, elle extériorise l'évolution de la maladie et permet de contrôler l'efficacité ou l'inefficacité d'une médication. Elle rend ainsi la cure plus rapide en éliminant toute thérapeutique qui se révèle inopérante.

Ce sont là autant de raisons qui font de la réaction de Vernes une méthode de choix pour le contrôle du traitement.

V. — *Réactions d'opacification : Dujarric de La Rivière et Meinicke-Mutermilch.*

Historique. — Les réactions à floculation directe présentent, à côté de leurs avantages, le gros inconvénient de la difficulté de lecture; une instrumentation optique complexe est souvent nécessaire, aussi s'est-on efforcé de rendre la réaction facilement lisible à l'œil nu.

Après l'exposition, en 1921, par Dold, du principe de l'opacification précédant la floculation, par suite du gonflement des grains colloïdaux, les recherches tendirent à rendre plus visible le phénomène en question. La solution fut trouvée par l'adjonction de teintures de résines à l'extrait lipoïdique. Les travaux à ce sujet furent poursuivis simultanément en France par Dujarric de La Rivière et en Allemagne par Meinicke.

A. — Réaction de Dujarric de La Rivière.

Dujarric de La Rivière et Et. Roux avaient remarqué que si l'on ajoute un sérum antiméningococcique à un mélange d'antigène méningococcique et de teinture de gomme gutte émulsionné dans de l'eau physiologique, l'opacité augmente

tandis que le mélange s'éclaircit complètement dans le cas d'un sérum normal.

Dujarric de La Rivière donne de ce phénomène l'explication suivante : le sérum et l'antigène jouent seuls un rôle actif dans la floculation; à eux seuls ils produisent une floculation, mais les grains de cette dernière sont trop petits pour être perçus à l'œil nu. C'est alors qu'intervient la gomme résine, qui provoque la réunion de ces grains sous forme de conglomérats macroscopiques. L'émulsion colloïdale antigénique, qui sert pour la réaction, est, dans les conditions normales, en équilibre. Si on ajoute un sérum floculant, l'équilibre sera rompu, mais suivant un rythme assez lent, donnant lieu à des floculats très ténus. Si on ajoute au mélange une gomme résine, qui, au moment de la rupture de l'équilibre, amène un brusque changement de l'état physique, la floculation s'intensifie : autour du floculat primitif donné par le simple mélange sérum + antigène viennent se grouper des particules dont l'ensemble produit des flocons visibles à l'œil nu.

L'auteur compare ce processus au phénomène signalé par Rutherford et Millikan, au sujet de la condensation de la vapeur d'eau : la condensation de la vapeur d'eau est causée par les ions qui se comportent comme des noyaux électrisés attirant les molécules d'eau jusqu'à formation d'une gouttelette.

Dujarric de La Rivière assimile sa réaction à un processus de défense de la matière vivante, en se basant sur la théorie colloïdale : si l'on met dans le mélange antigénique une quantité suffisante de gomme résine pour que l'ensemble flocule spontanément avec l'eau physiologique, on remarque que l'addition d'un sérum pathologique accentue la floculation, tandis que le mélange redevient homogène par addition d'un sérum normal.

Ce phénomène est assimilable à la défense de la cellule vivante : à l'état normal, celle-ci est en équilibre malgré les sollicitations venues du dehors susceptibles de le rompre;

elles n'y réussissent qu'à l'état pathologique en produisant la floculation. Le sérum normal, comme tous les éléments vitaux, a la propriété de maintenir l'équilibre de ses colloïdes et de le rétablir si une floculation s'amorce.

Application a la Σ. — Les auteurs appliquèrent cette réaction au sérum Σ en substituant à l'antigène méningococcique un antigène syphilitique (antigène de Bordet-Ruelens, péréthynol, etc.) et à la gomme gutte le benjoin de Sumatra.

L'expérience a montré que seul le benjoin de Sumatra convient pour la réaction parce qu'il contient de l'acide benzoïque et cinnamique, ce dernier acide faisant défaut dans le benjoin du Siam.

Les acides, à eux seuls, ne pourraient d'ailleurs pas remplacer le complexe qu'est le benjoin; ils n'ont pas, au surplus, d'action spécifique. Leur rôle semble dû au fait qu'ils rapprochent la résine de son point iso-électrique et facilitent la floculation.

C'est en partant de ces considérations que Dujarric de La Rivière mit au point une des premières réactions d'opacification. Sa méthode, peu pratiquée en France, est assez en honneur à l'étranger où elle est plus connue sous les noms de Starobinsky ou Sachs Klopstock, ces derniers lui ayant fait subir quelques modifications de détail. La réaction n'en est pas moins due à Dujarric de La Rivière, dont les travaux ont deux ans de priorité (*Presse médicale*, 14 mars 1925).

B. — Réaction de Meinicke-Mutermilch.

Meinicke, poursuivant ses recherches dans le même sens que Dujarric de la Rivière, adopta comme résine le baume de Tolu et présenta sa « Trübungsreaktion » dont l'emploi s'est rapidement répandu.

Signalons ici que la formule exacte de l'antigène est gardée secrète, l'auteur n'en ayant donné que la composition qualitative : extrait alcoolique de cœur de cheval + acide

benzoïque + teinture de Tolu. Une maison allemande détient le monopole de sa fabrication.

Mutermilch, reprenant les travaux de Meinicke, réalisa une réaction d'opacification au moyen d'un antigène analogue : comme Meinicke, il utilise un mélange d'extrait alcoolique de cœur de cheval, de teinture de Tolu et de cholestérol; quant à la composition exacte, elle est également tenue secrète.

L'antigène de Meinicke et celui de Mutermilch donnent des résultats pratiquement identiques (Le Chuiton), ce qui justifie la confusion qui existe assez souvent en France entre la réaction d'opacification originale et celle de Mutermilch; toutes deux sont désignées sous le nom de « réaction de Meinicke ».

L'antigène de Mutermilch s'emploie sous forme d'émulsion dans l'eau salée à 3 p. 100. Cette concentration est nécessaire pour obtenir la floculation maxima en présence d'un sérum Σ, et l'absence de floculation avec un sérum normal, comme l'ont montré Chevrel-Bodin et Cormier, qui ont étudié les variations de l'opacification (mesurée au photomètre de Vernes) produite par un sérum Σ et un sérum normal, en présence d'émulsions antigéniques à des taux croissants de ClNa; pour une concentration en ClNa égale à 3 p. 100, l'opacification est maxima avec un sérum syphilitique et reste nulle avec un sérum normal.

Pour opérer dans des conditions constantes, il est, de plus, indispensable que l'eau salée utilisée pour diluer l'antigène soit à un pH déterminé : le Docteur Servantie avait, en effet, remarqué, en 1928, de fréquentes divergences entre les résultats fournis par divers laboratoires pour un même sérum; c'est ainsi qu'il fut amené à étudier l'influence du pH du milieu de dilution : il constata que la sensibilité de la réaction varie suivant une courbe paraboloïde lorsque le pH varie de l'acidité à l'alcalinité; le sommet de la courbe (c'est-à-dire la sensibilité maxima) correspond à pH 7. C'est ce pH que le Docteur Servantie adopta, et dès lors disparurent les divergences ci-dessus mentionnées.

Causes d'erreurs. — En dehors des causes d'erreurs inhérentes à toute réaction qui n'a pas la spécificité pour base, la réaction de Meinicke-Mutermilch est susceptible de donner des résultats erronés, cela pour des raisons d'ordre biologique et technique qui ont été signalées par Le Chuiton.

1° *Erreurs d'ordre technique.* — Le Chuiton considère comme primordiale l'action de la lumière et de la température. A la suite d'une série d'expériences, il a remarqué l'action empêchante de l'obscurité sur les réactions faibles : une réaction + à la lumière devient — à l'obscurité. La chaleur aurait une action encore plus marquée : une série de sérums donnant de + à +++ lorsque la réaction se fait à la température du laboratoire, donne au contraire des réactions constamment négatives quand les tubes sont mis au bain-marie à 27 degrés. La température de négativation des réactions faibles semble être aux environs de 25 degrés.

L'auteur signale également l'action des variations de pression, la réaction étant empêchée par la raréfaction; il y a lieu, cependant, de négliger l'action des variations de la pression atmosphérique.

2° *Erreurs d'ordre biologique.* — Comme erreur de ce type, Le Chuiton signale les Meinicke positifs à la suite d'injections de dmelcos, chez des porteurs de chancres simples, non spécifiques et sans aucun antécédent syphilitique, alors que, dans les mêmes conditions, la réaction de déviation du complément reste négative.

Certains auteurs, comme Milian, pensaient à une ancienne Σ réactivée par le dmelcos; mais l'examen du suc chancrelleux ne montrant aucun tréponème, et la négativation du Meinicke, un certain temps après la série d'injections, sans le secours d'aucun traitement, semblent écarter toute possibilité de syphilis. Le choc colloïdoclasique, produit par le vaccin, paraît à lui seul expliquer la fausse réaction.

Le Chuiton signale le même fait à la suite d'injections de vaccin antigonococcique de l'Institut Pasteur, selon la méthode de Poincloux. Même constatation dans le cas de

paludisme, qui donne déjà de fausses réactions de déviation du complément.

Le Chuiton a tenté de différencier ces fausses réactions des vraies; à cet égard, il a essayé les agents physiques : chaleur et vide, et chimiques : addition d'une solution dispersante (nitrate de soude, gomme arabique); dans tous les cas, la réaction est amoindrie, qu'elle soit spécifique ou non, et aucune méthode n'a permis, jusqu'à présent, de différencier les fausses réactions.

VI. — *Réaction de Kahn.*

La méthode de Kahn est basée sur un processus un peu différent de celui de la réaction de Dujarric de la Rivière. Dans cette dernière, la suspension antigénique est formée de granules très fines qui sont agglomérées ou dispersées suivant que le sérum est spécifique ou non. Dans la réaction de Kahn, au contraire, on assiste à plusieurs stades successifs : l'émulsion antigénique formée de granulations grossières est d'abord dispersée lors de l'addition du sérum à expérimenter, qu'il soit *positif ou négatif;* ensuite, si le sérum est spécifique, il se forme de nouvelles granulations au sein du liquide. Les facteurs concourant à la production de ce phénomène sont les suivants :

1° Réalisation d'une concentration optima des lipoïdes antigéniques;
2° Définition de la suspension d'antigène et des proportions de celle-ci avec le sérum;
3° Définition des conditions physiques suivant lesquelles doivent se rencontrer sérum et antigène.

Par une étude approfondie de ces facteurs, Kahn est arrivé à mettre au point sa réaction qui, à l'heure actuelle, semble être l'un des meilleurs tests pour la détection de l'infection Σ. Son incontestable valeur l'a fait adopter aux Etats-

Unis par les départements d'hygiène de nombreux Etats, et elle se répand de plus en plus en Europe, tout particulièrement en France, en Allemagne et en Angleterre.

Dans l'étude théorique de sa réaction, Kahn distingue deux stades dans le phénomène de précipitation : le premier consiste en la formation d'agrégats lipoïdiques dispersables par addition d'eau salée ou de sérum. Dans le second, il met la suspension lipoïdique en présence du sérum à examiner. Deux phénomènes se produisent alors : les agrégats sont immédiatement dispersés et restent dans cet état si le sérum est normal. S'il est Σ, on assiste à la formation de nouveaux agrégats. La plupart des auteurs, et Kahn en particulier, admettent que ces derniers agrégats sont formés de lipides et auraient une composition analogue à celle des agrégats de la suspension d'antigène.

En résumé, pour pouvoir servir d'antigène, les lipides doivent satisfaire aux conditions suivantes :

« *a*) Etre dispersées au maximum dans l'extrait alcoolique;
» *b*) Former des agrégats à la suite du mélange antigène + eau salée;
» *c*) Ces agrégats doivent être dispersés dans le mélange antigène + solution salée + sérum à expérimenter;
» *d*) Reformer des agrégats dans le cas d'un sérum Σ. »

a) Kahn pense que l'extrait lipoïdique d'organes utilisé comme antigène n'est pas moléculairement dispersé, mais existe sous forme de solution colloïdale dans l'alcool.

b) En mélangeant cet extrait alcoolique avec de l'eau salée physiologique, la suspension prend des aspects différents suivant la quantité d'eau salée ajoutée.

1° Si à 1 cm³ d'antigène on ajoute une quantité d'eau salée inférieure à 0,2 cm³, le mélange obtenu demeure clair et sans particules visibles, car il contient une quantité d'alcool suffisante pour maintenir les lipoïdes sous forme de solution colloïdale. C'est ce que Kahn appelle la *zone de solution*.

2° Quand, à une prise de 1 cm³ d'antigène, on ajoute de 0,2 cm³ à 1,5 cm³ d'eau salée, on obtient une suspension d'agrégats lipoïdiques : c'est *la zone d'agrégation*, celle qui nous intéresse. L'auteur donne au sujet de sa formation cette explication que les micelles lipoïdiques en solution colloïdale dans l'antigène seraient entourées de molécules d'alcool fortement liées à leur surface et les empêchant de s'agglomérer. L'adjonction d'une quantité suffisante d'eau salée donne naissance à des agrégats lipoïdiques : ils ont pour cause l'affinité de l'eau pour l'alcool, dont le résultat est de faire disparaître le film protecteur d'alcool entourant les micelles lipoïdiques, lesquelles peuvent alors s'agglomérer les unes aux autres.

La croissance de l'agglomérat lipoïdique n'est pas indéfinie, et cela parce que, d'après Kahn, la surface libre du conglomérat ainsi formé étant moindre que la somme des surfaces des micelles avant agglomération, les quelques molécules d'alcool qui ont échappé à la destruction suffisent pour reconstituer une couche protectrice autour du conglomérat dont la croissance se trouve ainsi arrêtée.

3° Si la quantité d'eau salée ajoutée à 1 cm³ d'antigène est plus grande que 2 cm³, on obtient une émulsion opalescente sans particules visibles, c'est *la zone d'opalescence*.

c) On a vu dans quelles conditions l'extrait lipoïdique donnait un floculat au contact de l'eau salée, et, d'autre part, l'expérience montre qu'il faut ajouter à 1 cm³ d'antigène une dose d'eau salée comprise entre 0,2 cm³ et 1,5 cm³, c'est ce que Kahn appelle la « zone d'agrégation ». Mais les propriétés des agrégats ne sont pas constantes à l'intérieur même de cette zone.

Lorsque la dose d'eau salée est comprise entre 0,2 et 0,9 cm³, les agrégats formés sont compacts et difficilement dispersables par addition ultérieure de sérum ou d'eau salée, qui forment autour des agrégats un film protecteur.

Quand, au contraire, la dose d'eau salée est supérieure à 0,9 cm³, on obtient des agrégats assez lâches pour être

facilement dispersables. C'est précisément dans ce cas qu'on doit se placer pour la réaction de Kahn. Car « les agrégats doivent être dispersés dans le mélange antigène-solution salée-sérum ».

d) Action du sérum Σ sur la suspension antigénique. — Kahn pense que l'action de la réagine Σ sur les particules lipoïdiques de l'antigène est régie par un phénomène de surface.

L'addition d'un sérum quel qu'il soit à la suspension antigénique provoque tout d'abord la dispersion des particules. Ce phénomène, qui se produit aussi bien dans le cas d'un sérum normal que dans celui d'un sérum Σ, constitue, comme nous l'avons vu, le premier temps de la réaction de Khan. Puis se produit le second temps : si le sérum est normal, le milieu reste dispersé; si, au contraire, il est spécifique, la réagine provoque l'agrégation des particules lipidiques préalablement dispersées.

Pour faciliter cette agrégation, une énergie étrangère s'impose; Kahn a choisi l'agitation. Le processus intime de l'agrégation s'explique ainsi d'après ce dernier : la formation d'agglomérats réagine-lipides résulte d'un phénomène d'adsorption; elle serait due « à la propriété que possède le sérum d'entourer de réagine les micelles invisibles de lipides antigéniques, qui avaient été préalablement dispersés au contact du sérum... Quand ces particules sont suffisamment entourées de réagine, elles peuvent se réunir en agrégats visibles, tandis que celles qui ne sont pas assez entourées ne peuvent s'agglomérer ».

On voit par ce phénomène les raisons pour lesquelles dans les réactions fortement positives, c'est le tube contenant la plus grande quantité d'antigène qui présente le floculat le plus intense, alors que les sérums à faible potentiel syphilitique ne donnent souvent de précipité que dans le tube contenant la plus faible dose d'antigène.

Pour pratiquer la réaction standard de Kahn, on place

dans le premier tube 0,05 cm³ de suspension d'antigène, 0,025 cm³ dans le second et 0,0125 dans le troisième. Après addition de 0,15 cm³ de sérum dans chaque tube, les agglomérats sont dispersés sous forme de micelles invisibles. Le nombre de ces micelles contenu dans le premier tube est représenté par n, celui du second $n/2$ puisqu'il contient un volume d'antigène deux fois moindre, et celui du troisième $n/4$. Si le sérum ajouté est fortement positif, il contient une quantité de réagine suffisante pour englober les n micelles de lipides du premier tube et en permettre l'agglomération. Naturellement, le phénomène sera identique pour les deux autres tubes.

Avec un sérum expérimenté faiblement positif, il peut arriver qu'il ne possède pas assez de réagine pour englober les n micelles du premier tube; celui-ci ne contient alors qu'un faible précipité, mais s'il possède suffisamment de réagine pour entourer $n/2$ micelles, il y a précipitation dans le deuxième tube, et, naturellement, dans le troisième; la réaction sera alors représentée par : +, + + + +, + + + +. Dans le cas d'un sérum très faiblement positif, il arrive que la réagine en trop faible quantité ne puisse englober que $n/4$ micelles; alors c'est le troisième tube qui sera précipité, et on aura une réaction ainsi figurée : —, +, + + +.

Choix d'un antigène. — Les premiers essais de Kahn, pour arriver à fixer la composition de son antigène, portèrent sur des extraits alcooliques de muscles frais, dont la sensibilité fut insuffisante. Il essaya alors les extraits de muscle desséché et additionnés de cholestérol; ces antigènes ne pouvaient être employés qu'après dilution avec une grande quantité d'eau physiologique, ce qui donnait lieu à une suspension opalescente. Là encore, la sensibilité laissait à désirer. Les meilleurs résultats furent obtenus avec des extraits cholestérolés de cœur desséché, préalablement épuisés par l'éther ou l'acétone. C'est un antigène de ce genre que l'auteur adopta finalement pour sa réaction.

Préparation de l'antigène de Kahn.

Nous croyons être utile aux expérimentateurs, qui désireraient préparer eux-mêmes leur antigène, en reproduisant un extrait du mode de préparation, tel qu'il est formulé par Kahn dans son ouvrage : *The Kahn test, a practical guide* (1).

« L'antigène pour la réaction de Kahn est un extrait alcoolique cholestérolé de poudre de cœur de bœuf, partiellement débarrassé de ses éléments solubles dans l'éther.

Réactifs. — Pour la préparation de l'antigène à partir de la poudre de cœur de bœuf, on utilise trois réactifs : *a*) éther; *b*) alcool; *c*) cholestérol.

Poudre de cœur de bœuf (Mode de préparation). — Trois cœurs de bœuf (ou davantage) débarrassés de leur graisse sont finement hachés en les passant trois ou quatre fois dans un moulin à viande. La pulpe obtenue est étendue en couche mince sur un plateau de verre ou de porcelaine et on la dessèche au moyen d'un ou deux ventilateurs électriques. Quand la surface est devenue quelque peu sèche, après six heures d'exposition aux ventilateurs, on retourne la substance et on poursuit la dessiccation toute la nuit. La matière desséchée est divisée en petits morceaux; on recouvre d'une gaze, et on achève la dessiccation jusqu'à consistance cassante. On pulvérise alors le tout dans un mortier ou un moulin à café réservé à cet usage.

La poudre de cœur de bœuf pour la préparation de l'antigène se trouve maintenant dans le commerce sous le nom de « Bacto-beef-Heart » (préparée par la Digestive Ferments Company, Detroit, Mich.). Notre expérience nous a montré que les préparations commerciales donnent des résultats très constants probablement à cause du grand nombre de cœurs employés pour préparer un lot déterminé. A cause de cette constance et pour s'épargner du temps et du travail, nous croyons qu'il est avantageux d'employer un tel produit pour la préparation de l'antigène.

a) *Ether.* — Les meilleurs résultats pour l'extraction du cœur de bœuf ont été obtenus avec l'éther anesthésique contenant

---

(1) Qu'il nous soit permis d'exprimer ici toute notre gratitude à M. le Professeur Kahn, qui a bien voulu nous autoriser à traduire et à insérer dans notre travail ce chapitre de son ouvrage.

3 p. 100 d'alcool. Après extraction, l'éther peut être distillé et utilisé pour une opération ultérieure.

b) *Alcool.* — On emploie l'alcool à 95 degrés. On pourrait se servir d'alcool absolu, mais par raison d'économie l'alcool à 95 degrés est recommandé. Le titre de l'alcool peut être supérieur à 95 degrés, *mais ne doit pas être au-dessous de ce chiffre*, sinon le cholestérol cristalliserait.

c) *Cholestérol.* — On doit employer un cholestérol chimiquement pur. Nous avons essayé des cholestérols de différentes marques qui nous ont donné les mêmes résultats.

Préparation. — La préparation de l'antigène comprend : *a*) une série de quatre extractions de la poudre de cœur de bœuf par l'éther, suivie de : *b*) une extraction par l'alcool, et *c*) cholestérolisation du produit final. On part d'une prise de 25 grammes de poudre de cœur de bœuf et on la traite dans un Erlenmeyer de 250 cm³.

a) *Extraction par l'éther.* — 1° On place 25 grammes de poudre de cœur de bœuf dans un Erlenmeyer de 250 cm³. On ajoute 100 cm³ d'éther anesthésique et on agite le flacon à fréquents intervalles pendant 10 minutes. Au bout de ce temps, on élimine l'éther par filtration. On appuie légèrement avec une spatule sur la poudre de cœur de bœuf pour extraire la plus grande partie de l'éther qu'elle peut retenir; la filtration est complète quand aucune goutte d'éther ne sort de l'entonnoir, lorsqu'on presse la poudre avec la spatule.

2° La poudre encore humide est replacée dans l'Erlenmeyer (ce transvasement est facilité en vidant d'abord l'entonnoir sur une feuille de papier blanc et en écrasant les grumeaux pour permettre le passage à travers le goulot). On ajoute 75 cm³ d'éther; on agite à fréquents intervalles pendant 10 minutes et on élimine l'éther comme précédemment.

3° On replace pour la troisième fois la poudre et on ajoute 75 cm³ d'éther; on agite à fréquents intervalles pendant 10 minutes et on élimine l'éther comme précédemment.

4° La poudre humide est replacée pour la quatrième fois dans l'Erlenmeyer; on ajoute 75 cm³ d'éther, on agite à fréquents intervalles pendant 10 minutes et on élimine encore l'éther.

Il est bon d'employer un papier filtre neuf pour chaque filtration, mais on doit prendre soin de réduire au minimum la perte de poudre en raclant le résidu qui adhère au papier, et en ajoutant le produit de raclage dans l'Erlenmeyer.

Après la quatrième extraction, la poudre est débarrassée de la

majeure partie de son éther (comme il a été expliqué lors de la première extraction); on l'étale alors sur une feuille de papier blanc ou sur une assiette de verre propre, et on la dessèche à l'étuve à 37° C. pendant 10 minutes (ou à la température du laboratoire pendant une période plus longue). Quand la substance est sèche et exempte d'odeur d'éther, elle est prête pour l'extraction par l'alcool.

b) *Extraction par l'alcool.* — Après avoir été complètement épuisée par l'éther, la poudre sèche est pesée et placée dans un Erlenmeyer de 250 cm³. *On ajoute 5 cm³ d'alcool à 95 degrés par gramme de poudre.* On agite le flacon pendant 10 minutes et l'extraction est continuée pendant 3 jours à la température du laboratoire (environ 21° C.). Le flacon n'est pas agité durant cette période d'extraction, sauf 5 minutes juste avant la filtration. L'extrait alcoolique filtré est conservé comme solution de réserve à la température du laboratoire et à l'obscurité. Tous les bouchons employés lors de la préparation et de la mise en réserve de l'antigène doivent être recouverts d'une feuille d'étain fin.

c) *Cholestérolisation.* — On mesure l'extrait alcoolique dans un Erlenmeyer et on ajoute 6 *milligrammes de cholestérol par centimètre cube d'extrait.* Le flacon est placé au bain-marie tiède et agité pour hâter la solution du cholestérol. Quand ce dernier est complètement dissous, l'antigène est filtré et est prêt pour la standardisation.

Remarques sur la préparation de l'antigène.

Cœur de bœuf. — On pense généralement que le cœur utilisé pour la préparation des antigènes doit être aussi frais que possible. Des expériences faites au laboratoire du Professeur Kahn montrent qu'une certaine autodigestion du muscle cardiaque ne le rend pas impropre à la préparation de l'antigène pour la réaction de Kahn et peut même accroître sa sensibilité. Le muscle cardiaque qui ne montre pas de signe de décomposition peut être en toute sécurité utilisé pour la préparation de l'antigène. Il arrive occasionnellement qu'un lot déterminé de poudre de cœur de bœuf produise un antigène dont la sensibilité est au-dessous du degré standard. Un tel antigène peut être corrigé par la méthode décrite au chapitre IV de l'ouvrage : *The Kahn test a practical guide.* Une autre méthode généralement préférable consiste à faire subir à la poudre de cœur de bœuf en question une incubation à 37 degrés pendant 15 jours, ou quelquefois même 30 jours. Ce traitement

accroît la sensibilité de l'antigène en résultant et peut ainsi dispenser d'une correction ultérieure. Une incubation prolongée pendant 2 mois ou plus à 37 degrés peut rendre la poudre impropre à la préparation de l'antigène par la méthode standard. Le mélange antigène + solution salée peut, dans ces conditions, contenir des agrégats, qui ne sont pas dispersés par addition ultérieure d'eau salée. Un séjour prolongé de la poudre à la température du laboratoire peut la rendre impropre à la préparation de l'antigène. *La poudre myocardique doit être conservée à la glacière...*

Conservation de l'antigène. — L'antigène, qu'il soit cholestérolé ou non, doit être conservé à la température du laboratoire et à l'obscurité. On n'a observé aucun changement dans la spécificité ou la sensibilité pour des antigènes qui avaient été conservés pendant 5 ans. Ceci s'applique aussi bien au produit non cholestérolé que cholestérolé.

Précautions spéciales. — La verrerie utilisée dans la préparation de l'antigène doit être chimiquement propre. Les bouchons en caoutchouc ou en liège doivent être recouverts d'une feuille d'étain fin. On a observé que le contact du caoutchouc accroît la sensibilité de l'antigène, le même phénomène se produit, à un plus faible degré, au contact du liège... Un tel antigène mélangé à la solution salée produit une suspension pour laquelle les particules lipoïdiques ne sont pas dispersables... Il est important de n'employer que des bouchons de liège recouverts d'une feuille d'étain fin. Pour l'expédition de l'antigène, les ampoules scellées ou les flacons bouchés à l'émeri sont recommandés; dans ce dernier cas, on doit s'assurer que le bouchage est parfait, pour éviter l'évaporation de l'antigène.

Solution salée physiologique. — Cette solution est préparée de la manière habituelle. Nous avons obtenu les mêmes bons résultats avec des solutions de chlorure de sodium à 0,85 et 0,9 p. 100. En pratique, nous recommandons la deuxième.

Depuis six ans que nous avons commencé nos études sur la réaction de Kahn, la solution salée ne nous a jamais occasionné de difficultés. D'habitude, nous en préparons 12 litres dans une bombonne de 14 litres, sans précautions de stérilité. On pèse le chlorure de sodium (chimiquement pur) et on le place dans un Erlenmeyer de 2 litres, on ajoute environ 1 litre d'eau distillée et on agite jusqu'à dissolution complète. On filtre alors la solution dans la bombonne de 14 litres, on rince l'Erlenmeyer deux fois à l'eau distillée que l'on filtre dans la bombonne, on achève de remplir cette dernière jusqu'à concurrence de 12 litres et on agite

la solution qui est prête pour l'usage. On la conserve à la température du laboratoire.

Un essai a été fait pour savoir si les variations du pH de la solution salée utilisée pour préparer la suspension d'antigène avaient quelque effet sur l'exactitude de la réaction de Kahn. On a trouvé que des solutions dont le pH allait de 6,5 à 4 ou de 8,9 à 10 donnaient des résultats pratiquement identiques à ceux obtenus avec une solution de pH 7.

On a essayé de voir si des solutions salées centinormales en acide ou en alcali ou ayant une ionisation plus grande n'affectaient pas l'exactitude de la réaction de Kahn. L'expérience a montré que des solutions salées centinormales ou deux fois centinormales en acide chlorhydrique n'avaient pratiquement pas d'effet, tandis qu'une solution trois fois centinormale en ClH commençait à donner des réactions faussement positives. Ces fausses réactions s'accroissent à mesure que le taux d'acide augmente.

Quand on ajoute de l'hydroxyde de sodium à la solution salée physiologique, on trouve que lorsque cette solution est centinormale en HONa, les Kahn positifs sont atténués. Quand la concentration en alcali devient 2 ou 3 fois centinormale, certaines réactions positives à 4 croix deviennent pratiquement négatives.

Ces faits montrent que l'exactitude de la réaction de Kahn n'est pas affectée par de légères variations de la concentration en hydrogène de la solution salée utilisée pour la réaction; mais elle est affectée quand la solution salée a une acidité 3 fois centinormale (en ClH) ou une alcalinité centinormale (en HONa).

Standardisation de l'antigène.

But. — Le but de la standardisation de l'antigène est de le rendre semblable en spécificité et en sensibilité à l'antigène standard. Cette opération comprend trois étapes :

1° *Titrage de l'antigène.* — Détermination du volume minimum de solution salée que l'on doit ajouter à un volume donné d'antigène pour provoquer la formation d'agrégats lipoïdiques susceptibles d'être complètement dispersés lors de l'addition ultérieure d'eau salée (... le mot dispersion n'est pas pris au sens physique du mot qui a trait à la dispersion moléculaire, mais seulement au sens de « absence de toute particule visible »-.

2° *Détermination de la sensibilité de l'antigène.* — L'antigène étant titré, on l'éprouve avec des sérums Σ et non Σ, en prenant l'antigène standard comme étalon.

3° *Correction de l'antigène* pour le rendre comparable au standard lorsque sa sensibilité n'est pas égale à celle de l'antigène standard.

I. — *Titrage de l'antigène.*

Méthode :

1° Mesurer 0,6 — 0,8 — 1 — 1,1 — 1,2 cm³ de solution salée physiologique dans 5 tubes à suspension d'antigène (5,5 cm. de long, 1,5 cm. de diamètre).

2° Mesurer dans 5 tubes semblables 1 cm³ d'antigène cholestérolé.

3° Préparer 5 suspensions d'antigène en mélangeant chaque prise d'eau physiologique avec 1 cm³ d'antigène. Vider la solution salée dans l'antigène aussi rapidement que possible (sans attendre que le tube soit complètement égoutté) et retransvaser 6 fois. Laisser le mélange au repos pendant 30 minutes.

4° Eprouver la dispersibilité des agrégats lipoïdiques de la suspension d'antigène comme suit :

a) Préparer 5 séries de 3 tubes standard (du modèle utilisé pour la réaction de Kahn : 7,5 cm. de long, 1 cm. de diamètre).

b) Prélever 0,05 — 0,025 — 0,0125 cm³ de chaque suspension que l'on place dans chaque série de 3 tubes en se servant d'une pipette de 0,2 ou 0,25 cm³ divisée en 0,001 ou 0,0125 cm³, et que l'on introduit jusqu'à contact avec le fond du tube.

Quand on mesure les suspensions d'antigène, il est recommandé de commencer par la suspension contenant le plus fort taux d'eau salée et de finir par celle qui en contient le moins. Cela évite de porter des lipides non dispersibles d'une suspension dans l'autre.

c) Avec une pipette de 1 cm³, ajouter 0,15 cm³ de solution salée à chacun des 15 tubes.

d) Agiter le porte-tube avec l'appareil à agitation pendant 3 minutes à la vitesse de 275-285 oscillations par minute. Si l'on n'a pas d'appareil, on agitera à la main en se rapprochant de cette vitesse.

e) Ajouter 1 cm³ de solution salée aux tubes contenant 0,05 cm³ de suspension antigénique et 0,5 cm³ aux autres tubes. Observer si les liquides sont opalescents ou s'ils contiennent des agrégats.

Interprétation des résultats. — Quand chacune des 5 suspensions d'antigène est ainsi éprouvée pour la dispersibilité de ses agrégats au moyen de l'épreuve des 3 tubes, on trouve généralement que les suspensions d'antigènes préparées en mélangeant 1 cm³ d'antigène avec 0,6 ou 0,8 cm³ d'eau salée contiennent des agrégats qui ne sont pas dispersables par addition ultérieure d'eau

salée, alors que les 3 tubes restants, qui contiennent respectivement 1 cm³ d'antigène et 1 — 1,1 — 1,2 cm³ d'eau salée, ont des agrégats complètement dispersables par addition d'eau salée.

La plus petite quantité d'eau salée qui, par addition à 1 cm³ d'antigène, donne lieu à des agrégats susceptibles d'être complètement dispersés par addition ultérieure d'eau salée constitue le titre de l'antigène.

II. — *Détermination de la sensibilité de l'antigène.*

Après avoir déterminé le titre de l'antigène, il reste à établir si sa sensibilité est comparable à celle de l'antigène standard. A cette fin, l'antigène en question et l'antigène standard sont éprouvés simultanément avec un certain nombre de sérums Σ.

1° *Préparation des sérums syphilitiques.* — On prend 10 sérums : 8 provenant de syphilitiques et deux de non-syphilitiques. Parmi les 8 sérums spécifiques, 6 au moins doivent donner des réactions faiblement positives, et ceux qui restent doivent être fortement positifs. Si l'on n'a pas de sérums donnant une réaction faiblement positive, on peut diluer les sérums fortement positifs avec de l'eau physiologique ou avec un sérum négatif jusqu'à ce qu'ils donnent une réaction faiblement positive. Tous les sérums sont chauffés pendant 30 minutes à 56° C. avant d'être éprouvés. Si les sérums en expérience ont déjà été chauffés pendant 30 minutes, on les réchauffera pendant 10 minutes à 56° C. avant usage. On emploie le même groupe de sérums pour toutes les études de sensibilité des antigènes.

2° *Epreuve comparative du nouvel antigène et de l'antigène standard.* — On prépare avec les deux antigènes des suspensions conformément à leur titre respectif. Les deux suspensions sont laissées au repos pendant 10 minutes et on en prélève 0,05 — 0,025 — 0,0125 cm³ pour 10 réactions. On ajoute ensuite 0,15 cm³ de chaque sérum dans chacun des 3 tubes de chaque série. Le tout est agité pendant 3 minutes à 275 oscillations par minute; après addition d'eau salée on fait la lecture et on compare les résultats fournis par les deux antigènes.

3° *Interprétation des résultats.* — Si les résultats fournis par les deux antigènes sont exactement comparables, le nouvel antigène possède probablement la sensibilité standard. Pour éliminer la possibilité d'une erreur, on effectue au moins une autre série comparative et, si les résultats sont encore comparables, le nouvel antigène peut être considéré comme standard. Dans le labo-

ratoire du Professeur Kahn, en plus de ces épreuves comparatives, on en effectue d'autres avec au moins 100 sérums (positifs et négatifs) avant de déclarer un antigène conforme au standard...

III. — *Correction de l'antigène.*

La sensibilité d'un antigène nouvellement préparé peut être plus grande ou plus faible que celle de l'antigène standard. Dans les deux cas, on doit l'amener à sa valeur standard. En présentant les méthodes de correction, notre but est de discuter celles que nous connaissons et de mettre en évidence celles que nous préférons. Deux réactifs sont nécessaires pour corriger l'antigène : l'alcool cholestérolé et le réactif sensibilisateur.

Préparation de l'alcool cholestérolé. — On prépare l'alcool cholestérolé de la même façon que l'antigène cholestérolé. Ainsi, pour cholestéroler 100 cm³ d'alcool à 95 degrés, on place dans un Erlenmeyer de 250 cm³ 600 mg. de cholestérol et 100 cm³ d'alcool à 95 degrés. On bouche avec un bouchon recouvert d'une feuille d'étain fin. Agiter le flacon dans un bain-marie tiède jusqu'à ce que le cholestérol soit dissous. Filtrer pour éliminer les matières étrangères. La solution est alors prête pour l'emploi.

Préparation du réactif sensibilisateur :

1° Le filtrat éthéré provenant de la préparation de l'antigène à partir de 50 grammes de poudre myocardique est refiltré pour éliminer toute trace de poudre. On l'évapore à l'aide d'un ventilateur électrique.

2° Quand le volume est réduit à environ 10 cm³, l'extrait éthéré concentré est placé dans une petite capsule tarée (de 25 cm³ de capacité)... L'évaporation est continuée à l'aide du ventilateur jusqu'à ce qu'aucune odeur d'éther ne soit perceptible.

4° A ce moment on peut séparer de la masse brun foncé quelques centimètres cubes d'eau. Cette eau, qui est au fond de la capsule, est enlevée au moyen d'une pipette capillaire. Le résidu de lipides est brunâtre, semi-transparent et visqueux.

5° En pesant la capsule, on détermine le poids du résidu.

6° On transvase le résidu dans un Erlenmeyer de 100 cm³ en s'aidant d'une petite spatule.

7° On ajoute alors dans le flacon 10 cm³ d'alcool absolu par gramme de résidu. Une partie de cet alcool est employée pour rincer la capsule.

8° On laisse l'extraction s'effectuer à la température du laboratoire pendant 10 minutes, en agitant fréquemment le flacon. Une faible partie du résidu est soluble dans l'alcool.

9° Le mélange est placé à la glacière pendant 3 heures (de 4° à 9° C.).

10° Le mélange est filtré alors qu'il est encore froid et on place le filtrat clair à l'étuve à 37° C. pendant 24 heures.

11° On laisse le filtrat clair au repos pendant 3 jours à la température du laboratoire. S'il se forme un précipité durant ce temps, on refiltre la solution.

12° Le filtrat est cholestérolé avec 6 milligrammes de cholestérol par centimètre cube selon la technique usuelle.

13° L'extrait cholestérolé connu sous le nom de réactif sensibilisant est filtré et est prêt pour l'usage.

Au sujet de la préparation du réactif sensibilisant, les points suivants méritent d'être remarqués : une portion relativement petite de l'extrait éthéré est soluble dans l'alcool absolu. Une partie de l'extrait semble entrer immédiatement en solution au contact de l'alcool, mais reprécipite graduellement. Ce processus de reprécipitation est activé en plaçant la solution alcoolique à la glacière. On a observé qu'en plaçant ensuite la solution à l'étuve à 37 degrés on évitait ou tout au moins réduisait au minimum la précipitation ultérieure des lipides.

Si le réactif sensibilisant manifestait une tendance à précipiter ses lipides, même après incubation, on redissoudrait le précipité par tiédissement; si le précipité est constitué par un simple résidu gommeux adhérant aux parois du flacon, on utilisera le liquide clair, sans lui faire subir aucun traitement. On remarquera que le réactif sensibilisant n'est pas un produit standard. En effet, puisque la nature et la concentration des lipides peuvent varier, selon la qualité du muscle cardiaque employé, il peut se faire que la correction d'un antigène donné nécessite une proportion d'un certain réactif sensibilisant plus grande que d'un autre réactif. Il est évident que même si le pouvoir sensibilisant d'un réactif est légèrement modifié par la précipitation d'une partie de ses lipides, cela n'empêche pas d'utiliser avec succès le réactif en question pour augmenter la sensibilité d'un antigène. En pratique, quand on se conforme strictement au mode de préparation ci-dessus indiqué, les précipités ne se forment que très rarement.

Calcul utilisé pour la correction d'un antigène.

On ajoute à l'antigène non standard un certain pourcentage de réactif sensibilisant. Par exemple, pour corriger un antigène avec 1,5 p. 100 de réactif sensibilisant, on ajoute 1,5 cm³ de ce dernier à 100 cm³ d'antigène. Quand on concentre un antigène avec ses propres lipides, l'accroissement de concentration s'exprime sous forme d'un pourcentage; ainsi, si l'accroissement de concentration que l'on désire faire est de 25 p. 100, 25 cm³ d'antigène non cholestérolé sont évaporés à siccité, et on dissout le résidu dans 100 cm³ de l'antigène cholestérolé, que l'on désire concentrer...

La correction d'un antigène par addition d'alcool cholestérolé est exprimée sous forme d'un pourcentage de diminution de la concentration des lipides de l'antigène; par abréviation, on emploie dans les tables l'expression « pourcentage de dilution ». Supposons que l'on désire diminuer de 20 p. 100 la concentration en lipides d'un antigène déterminé. Si la concentration originelle était de 2 g. p. 100 cm³, la concentration après correction sera égale à 2 moins 20 p. 100 de 2 ou :

$$2 - \left(\frac{20}{100} \times 2 \right) = 1{,}6 \text{ g. p. } 100 \text{ cm}^3.$$

Pour obtenir cette diminution de la concentration, on doit ajouter à chaque centimètre cube d'antigène une quantité d'alcool suffisante pour réduire la concentration de 2 g. p. 100 à 1,6 g. p. 100 cm³.

Antigènes nécessitant une correction :

1° Les antigènes plus sensibles que le standard;
2° Les antigènes moins sensibles que le standard.

I. — *Correction d'antigènes plus sensibles que l'antigène standard.*

a) *Par la concentration des propres lipides de l'antigène.*

Méthode : 1° Dans deux petites capsules on mesure respectivement 1 et 2 cm³ de l'antigène trop sensible (à l'état non cholestérolé).

2° Au moyen d'un ventilateur électrique les deux prises d'essai sont évaporées à siccité. Cela demande quelques minutes.

3° Chaque résidu est dissous dans 10 cm³ d'antigène cholestérolé; les antigènes ainsi modifiés contiennent respectivement 10 et 20 p. 100 de lipides de plus que dans l'antigène original.

4° L'antigène original et les deux antigènes modifiés sont éprouvés avec 10 sérums dont la plupart sont faiblement positifs; on emploie l'antigène standard comme contrôle.

5° Supposons que l'antigène, dont la concentration en lipides a été accrue de 20 p. 100, donne les mêmes résultats avec les sérums que l'antigène standard; on fait un contrôle avec 10 nouveaux sérums (pour éliminer la possibilité d'une erreur), et la quantité totale d'antigène trop sensible subit une concentration de 20 p. 100. Le nouvel antigène corrigé est finalement déclaré standard après un certain nombre d'épreuves comparatives faites en prenant l'antigène standard comme étalon...

6° Si ni l'accroissement de concentration à 10 p. 100 ni celui à 20 p. 100 n'amènent l'antigène à la sensibilité standard, on devra essayer d'autres concentrations.

b) *Par dilution de l'antigène avec de l'alcool cholestérolé.*

1° On prend deux prises d'essai de 10 cm³ de l'antigène trop sensible (cholestérolé), on les place dans deux Erlenmeyer de 25 cm³.

2° Dans l'une des fioles on ajoute 1,1 cm³ (dilution à 10 p. 100) et à l'autre 2,5 (dilution à 20 p. 100) d'alcool cholestérolé.

3° On éprouve l'antigène original et les deux antigènes dilués avec 10 sérums, en employant l'antigène standard comme contrôle.

4° Si, par exemple, l'antigène dilué à 20 p. 100 donne les mêmes résultats que l'antigène standard, on l'essayera avec 10 nouveaux sérums. Si les résultats sont toujours comparables au standard, on corrige la totalité de l'antigène trop sensible en lui ajoutant 20 p. 100 d'alcool cholestérolé.

L'antigène dilué est déclaré standard après un certain nombre d'essais comparatifs faits en prenant l'antigène standard comme étalon.

Si ni la dilution à 10 p. 100 ni celle à 20 p. 100 n'amènent l'antigène à son degré standard, mais l'en rapprochent, on essayera d'autres taux de dilution. Si la sensibilité est nettement trop grande, même avec une dilution à 20 p. 100, on utilisera de préférence la méthode par concentration précédemment décrite...

c) *En accroissant la quantité d'eau salée dans la suspension d'antigène au-delà du titre prévu.*

Méthode: 1° Supposons que le titre de l'antigène trop sensible soit 1 + 1,3. Nous préparerons trois supensions en mélangeant des prises de 1 cm³ d'antigène avec 1,3 — 1,5 — 1,7 cm³ d'eau salée.

2° Ces trois suspensions sont éprouvées avec des sérums; on

emploiera comme contrôle une suspension préparée avec un antigène standard. Si, par exemple, la suspension préparée avec 1,5 cm³ de solution salée donne, avec les sérums, des résultats comparables en sensibilité à ceux fournis par l'antigène standard, cette quantité de solution salée (au lieu de celle qui est indiquée par le titre) devra être employée pour préparer la suspension avec l'antigène en question. Dans ce cas, c'est la suspension, et non l'antigène, qui a été modifiée pour réduire sa sensibilité jusqu'à sa valeur standard.

Comme dans le cas des autres procédés de correction des antigènes, cette méthode nécessite un grand nombre d'épreuves comparatives faites en prenant l'antigène standard comme étalon, avant que l'on puisse déclarer conforme au standard l'antigène dont on a modifié le titre...

II. — *Corrections des antigènes moins sensibles que le standard.*

a) *Par addition à l'antigène de réactif sensibilisant suivie d'une dilution avec l'alcool cholestérolé.*

Méthode : 1° Deux prises de 10 cm³ de l'antigène hyposensible sont mesurées dans deux Erlenmeyer de 25 cm³.

2° A l'une des fioles, on ajoute 0,05 cm³ de réactif sensibilisant et 1,1 cm³ d'alcool cholestérolé. A l'autre, on ajoute 0,1 cm³ de réactif sensibilisant et 2,5 cm³ d'alcool cholestérolé.

3° On éprouve de la manière habituelle avec des sérums les deux antigènes modifiés ainsi que l'antigène original, en employant l'antigène standard comme étalon. L'antigène modifié, qui donne des résultats identiques à ceux du standard, est, après un nombre suffisant d'épreuves comparatives, déclaré standard. Dans le cas où l'on n'obtient pas de résultats comparables à ceux du standard, on essaye d'autres proportions de réactif sensibilisant et d'alcool cholestérolé...

b) *Par addition de réactif sensibilisant à l'antigène.*

La méthode utilisée pour corriger un antigène avec ce réactif est semblable à la méthode précédente, avec cette différence cependant que le réactif est utilisé sans addition d'alcool cholestérolé...

c) *Par dilution de l'antigène avec de l'alcool cholestérolé.*

Quelques antigènes peuvent avoir une faible sensibilité due à une trop grande concentration en lipides. Il est possible de concentrer de semblables antigènes par dilution avec de l'alcool cholestérolé.

Résumé des méthodes de correction des antigènes :

Les lignes suivantes résument les méthodes de correction énoncées plus haut.

Type d'antigène.	*Mode de correction.*
1° Antigènes de sensibilité identique à celle du standard.	Pas de correction.
2° Antigènes plus sensibles que le standard.	1° Concentration de ses lipides; ou 2° Dilution avec de l'alcool cholestérolé; ou 3° Accroissement de la proportion d'eau salée dans la suspension au-delà de celle indiquée par le titre.
3° Antigènes moins sensibles que le standard.	1° Addition de réactif sensibilisant suivie d'une dilution à l'alcool cholestérolé; ou 2° Addition de réactif sensibilisant seul; ou 3° Dilution avec l'alcool cholestérolé seul.

Méthodes préférées pour la correction.

a) Nous pensons qu'il est souhaitable d'employer autant que possible un titre standard pour les antigènes. Au laboratoire du Professeur Kahn, tous les antigènes utilisés durant les cinq dernières années ont été amenés au titre standard d'environ 1 + 1,1. Il n'y a cependant pas d'inconvénient à avoir des titres très voisins comme 1 + 1,2 ou 1 + 1,3. Il n'y a aucun inconvénient à utiliser un antigène que l'on amène à sa valeur standard par un léger accroissement de son titre (0,1 à 0,2 cm³). Notons qu'après correction des antigènes on a remarqué qu'il n'était presque jamais nécessaire de retitrer les antigènes corrigés avant de les éprouver avec les sérums.

b) Il est intéressant de remarquer qu'un antigène plus sensible que le standard a généralement un titre correspondant à une grande quantité d'eau salée. Les méthodes de correction convenant le mieux à de tels antigènes doivent tendre à réduire leur titre et, en même temps, à diminuer leur sensibilité. L'une de ces méthodes nécessite la dilution de l'antigène avec de l'alcool cholestérolé, alors que l'autre oblige à concentrer l'antigène avec

ses propres lipides. Le choix entre ces deux méthodes est déterminé comme suit : on essaye d'abord de diluer l'antigène trop sensible avec de l'alcool cholestérolé; si l'antigène peut être corrigé avec une quantité d'alcool cholestérolé n'excédant pas 25 p. 100, on adoptera cette méthode; si, au contraire, une quantité supérieure à 25 p. 100 est nécessaire, on préférera la méthode par concentration. L'expérience pratiquée avec des antigènes trop sensibles a montré que ceux qui nécessitent pour leur correction une trop grande dilution avec de l'alcool cholestérolé sont, au contraire, amenés à la sensibilité standard par une faible concentration de leurs lipides.

Il peut arriver que l'on ait cholestérolé la totalité de l'antigène avant de le standardiser. Dans ce cas, il est évidemment impossible de concentrer l'antigène avec ses propres lipides sans accroître, par cela même, la concentration en cholestérol au-delà de son taux de 0,6 p. 100. On ajoutera alors à l'antigène en question le résidu lipidique provenant d'un autre antigène non cholestérolé.

c) Voyons maintenant les méthodes de correction s'appliquant aux antigènes moins sensibles que le standard; le titre de ces antigènes indique la méthode de correction qu'il convient d'utiliser. Un antigène hyposensible, dont le titre dépasse 1 + 1 (1 + 1,2 — 1 + 1,3), possède une forte concentration en lipides et devra être corrigé par dilution avec de l'alcool cholestérolé. Un antigène hyposensible ayant un titre de 1 + 1 ou 1 + 0,9, 0,8 ou 0,7 possède une faible concentration en lipides; il sera convenablement corrigé par addition de réactif sensibilisant et d'alcool cholestérolé.

L'expérience a montré que les antigènes dont le titre est 1 + 1,1 ont, en général, une sensibilité conforme à celle du standard. Si de tels antigènes nécessitent une correction, la méthode de choix consiste à les diluer avec de l'alcool cholestérolé. Nous ajouterons que l'usage combiné du réactif sensibilisant et de l'alcool cholestérolé pour la correction des antigènes hyposensibles donne de meilleurs résultats que le réactif sensibilisant utilisé seul. »

VII. — *Réaction de Bordet-Robyn.*

Il s'agit d'une réaction de floculation de date récente, qui n'a encore fait l'objet d'aucune publication. Elle est due à M. Bordet, directeur de l'Institut Pasteur de Bruxelles, en collaboration avec le Docteur Robyn.

Pour pratiquer cette réaction, on utilise le floculo-réactif « A. B. F. » (antigène-Bruxelles-floculation) qui ne se trouve pas encore dans le commerce. Il nous a été confié, à titre expérimental, par M. Bordet par l'intermédiaire du Docteur Servantie.

La méthode n'ayant pas encore été présentée officiellement, son auteur n'a pas cru devoir publier la composition de l'antigène, préférant sans doute attendre que la réaction soit parfaitement et définitivement au point.

Dans la technique de Bordet, le sérum est inactivé à 56 degrés pendant 30 minutes. 1 cm^3 de ce dernier est mélangé avec 0,5 cm^3 de suspension d'antigène; le tout est mis à l'étuve à 37 degrés pendant 3 heures, et, après un séjour de 12 heures à la température du laboratoire, on effectue la lecture.

Sur les conseils du Docteur Servantie, nous avons fait subir à la technique originale une petite modification en nous inspirant des travaux de Kahn : nous avons substitué aux trois heures de séjour à l'étuve une agitation de 3 minutes à 275 oscillations par minute. Après une série de réactions comparatives, nous avons constaté que la technique ainsi modifiée donnait des résultats identiques à ceux de la méthode originale; aussi avons-nous adopté définitivement l'agitation qui rend la réaction plus rapide.

La lecture des résultats est généralement facile; seules les réactions faibles demandent un peu d'habitude. Après les 12 heures de repos, on observe dans tous les tubes, que le sérum qu'ils contiennent soit positif ou négatif, un léger

agglomérat plus ou moins abondant, souvent minime, surnageant le liquide. Il est indispensable d'agiter très légèrement le tube avant d'effectuer la lecture : si l'agglomérat se dissocie en granulations flottant dans le liquide, le résultat est positif. Quand, au contraire, le liquide devient parfaitement clair et est exempt de tout floculat, on conclut à la négative.

La réaction de Bordet-Robyn semble particulièrement intéressante à la fois au point de vue sensibilité et spécificité; elle ne semble pas donner de réactions positives non spécifiques, et sa sensibilité se rapproche de celle du Kahn.

Toutefois, nous n'avons pas effectué un nombre suffisant d'examens pour pouvoir formuler, en toute connaissance de cause, une opinion ferme sur sa valeur.

CHAPITRE IV

TECHNIQUES UTILISEES

I. — *Réaction de Vernes.*

Sérum. — Le sérum exempt de tout élément figuré (sinon il y a lieu de centrifuger) est chauffé pendant une demi-heure au bain-marie à 55° C. dans un tube bouché au caoutchouc. La prise d'essai est de 2 cm³ environ.

Préparation de la suspension d'antigène. — Elle est obtenue au moyen de l'appareil mélangeur électrique : dans le récipient cylindrique de 40 millimètres de diamètre on verse 12 cm³ d'eau bidistillée; on y fait descendre l'hélice de verre de 35 millimètres de l'appareil mélangeur de façon qu'elle soit recouverte par l'eau, mais ne touche pas le fond. On met alors l'appareil en marche et on fixe la vitesse de l'hélice à 200 tours par minute. On ajoute 6 cm³ de péréthynol (1) au moyen de la pipette spéciale débitant 1 cm³ par minute. Ensuite, on ajoute 21 cm³ d'eau bidistillée en mince filet. On laisse tourner le mélangeur quelques secondes encore, puis on l'arrête. (Figure hors texte.)

La suspension ainsi obtenue, qui doit être effectuée à 18°/20° C., est utilisée dans les 2 heures qui suivent sa préparation.

Pratique de la réaction. — Cette pratique nécessite un tube de réaction et un tube témoin. Ces tubes, à fond rond, ont 1,3 centimètre de diamètre et 6 centimètres de haut. Dans chacun d'eux, on place 0,8 cm³ de sérum inactivé; on

(1) Le péréthynol est préparé par l'Institut prophylactique, et est vendu par les établissements Leune, 28 *bis*, rue du Cardinal-Lemoine, Paris.

ajoute au premier 0,4 cm³ de suspension de péréthynol, et dans le témoin 0,4 cm³ d'un mélange d'eau distillée et d'alcool (alcool 2 cm³ + eau 11 cm³).

Les tubes sont alors placés au bain-marie à 25 degrés pendant 4 heures.

Résultats. — Les résultats sont donnés par le photomètre.

a) *Principe du photomètre.* — Un faisceau de lumière est divisé en deux pinceaux d'égale intensité. Le premier, qui traverse le mélange sérum-péréthynol contenu dans une cuve à faces parallèles sous une épaisseur de 1 centimètre, subit une certaine absorption. L'autre rencontre un coin de verre fumé. Les deux pinceaux sont ensuite ramenés en contact dans une lunette d'observation. On déplace alors le coin de verre fumé, de façon que le pinceau qui l'a traversé ait la même intensité que celui qui a traversé la cuve à sérum. La densité optique se lit sur une réglette fixée au coin photométrique; une lunette facilite cette lecture. (Figure hors texte.)

b) Lecture. — On verse le contenu du tube à réaction dans une cuve à faces parallèles, et on lit la densité optique, comme il a été dit plus haut. La même opération est répétée pour le tube témoin. La différence des deux lectures photométriques donne ainsi la densité optique du sérum.

Nota. — L'erreur de lecture n'excède généralement pas 3 divisions. Comme l'échelle en comporte 300, la précision de la lecture est de l'ordre du 1/100.

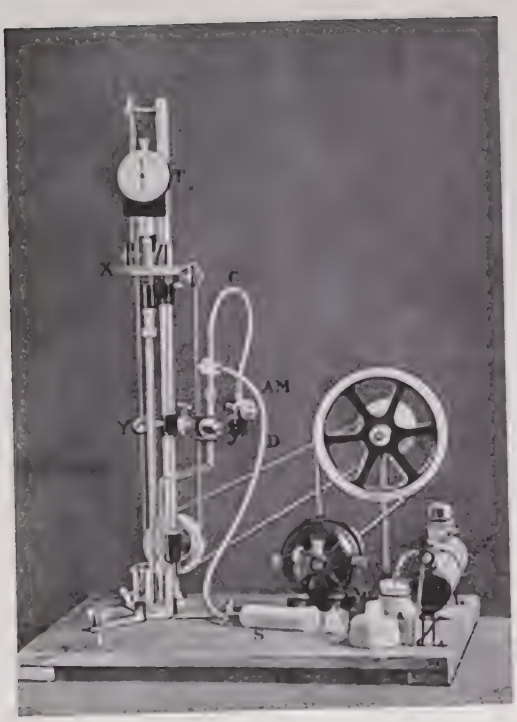
II. — *Réaction d'opacification de Meinicke-Mutermilch.*

Nous avons utilisé pour cette réaction le Tolu-antigène de Mutermilch [1].

Sérum. — Il doit être débarrassé de tout élément figuré par centrifugation ou mieux par dépôt spontané. Ce sérum

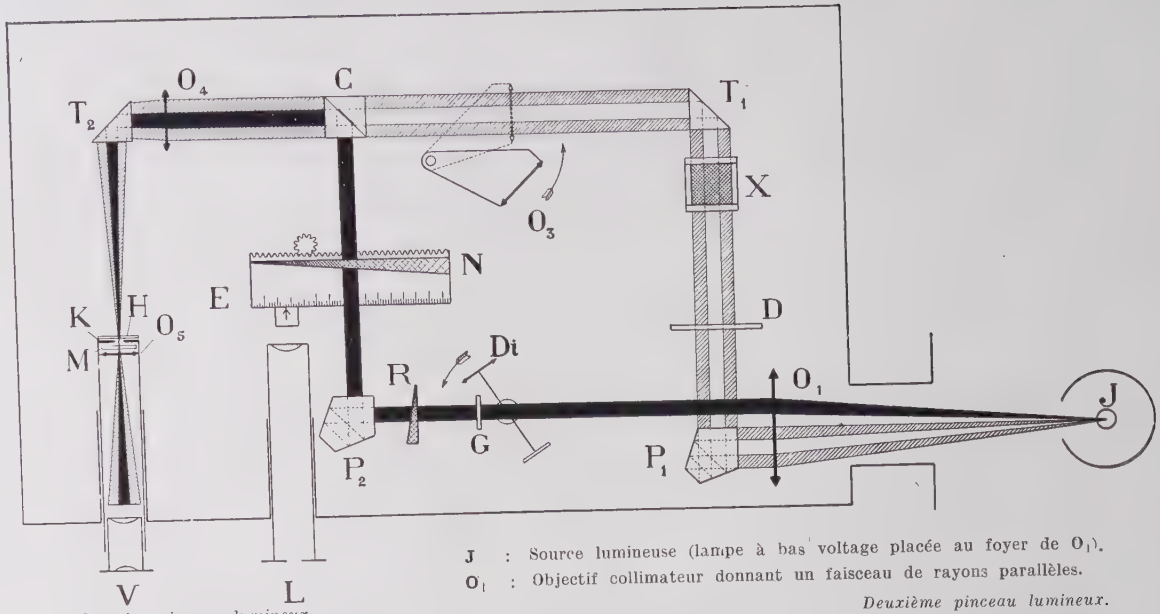
---

(1) Cet antigène est préparé par la Biothérapie, 5, rue Paul-Barruel, Paris (XV^e^).



Mélangeur électrique de Vernes pour préparer la suspension de péréthynol.

(Lenne, constructeur.)



Premier pinceau lumineux.

P1 : Prisme pentagonal (équerre optique).
D : Surcharges, que l'on peut à volonté placer ou enlever.
X : Loge métallique dans laquelle se met la cuve destinée à contenir le liquide à examiner.
T1 : Prisme triangulaire à réflexion totale.
Le système X et T1 se trouve sur une plate-forme mobile susceptible d'être tournée pour lecture en lumière diffusée.
O3 : Objectif qui s'introduit sur le trajet lumineux dans les mesures en lumière diffusée.
C : Cube fourni par 2 prismes triangulaires accolés par leur face hypothénuse, dont l'une porte en son milieu une bande verticale argentée formant miroir.
O4 : Objectif dont le foyer est sur la glace H, où il donne une première image de la source lumineuse.
T2 : Prisme triangulaire à réflexion totale.

J : Source lumineuse (lampe à bas voltage placée au foyer de O1).
O1 : Objectif collimateur donnant un faisceau de rayons parallèles.

Deuxième pinceau lumineux.

D1 : Système pour examens en lumière diffusée.
G : Surcharges, que l'on peut à volonté placer ou enlever.
P2 : Prisme pentagonal (équerre optique).
N : Coin photométrique mobile étalonné.
E : Echelle graduée du coin N.
R : Contre-coin de même angle que N, disposé en sens inverse.

Lunette d'observation.

V : Viseur avec son oculaire où l'œil aperçoit les deux plages d'observation qu'il importe de rendre semblables.
O5 : Objectif du viseur.
K : Diaphragme de 2 mm. sur lequel s'enchâsse un filtre coloré en rouge.
L : Loupe avec laquelle se lisent les résultats.

Marche des rayons lumineux dans le photomètre.

Tracé gris : Faisceau lumineux traversant en X le liquide à examiner et se dédoublant en C.
Tracé noir : Faisceau traversant le coin N étalon.

D'après : « Ce qu'il faut savoir de la méthode siphilimétrique Vernes et desapplications du photomètre », par les docteurs Marcel Léger et Gustave Martin. (Maloine, Editeur.)

est employé à l'état frais sans chauffage préalable. Pour chaque sérum, on fait deux prises d'essai de 0,2 cm³ chacune, que l'on place dans deux tubes de 12 millimètres de diamètre extérieur et de 7 centimètres de hauteur. L'un de ces tubes, qui servira de témoin, reçoit en plus une goutte d'aldéhyde formique (formol commercial).

Suspension d'antigène. — Dans un tube à essai de 17 millimètres de diamètre extérieur, on introduit 1 cm³ d'antigène; dans un autre tube semblable, on met 10 cm³ d'eau salée à 3 p. 100; ces deux tubes sont placés au bain-marie à 45° 50° C. pendant 10 minutes, après quoi on les sort en ayant soin de les essuyer extérieurement pour éviter d'introduire de l'eau du bain-marie dans la suspension, et on verse aussi rapidement que possible l'eau salée dans l'antigène; on retransvase 5 à 6 fois. On peut également opérer le mélange à l'aide d'une pipette de 10 cm³ à large effilure; on verse tout d'abord l'eau dans l'antigène, le tout est renversé aussitôt dans le premier tube, et encore une fois dans le second tube. Si le mélange n'est pas fait assez rapidement, il se produit un trouble exagéré qui rend la lecture difficile. On verse alors 1 cm³ de suspension d'antigène dans chacun des tubes à réaction et des tubes témoins. Cette répartition doit se faire rapidement pour éviter le refroidissement de la suspension. On agite légèrement les tubes pour assurer le mélange, puis on les laisse au repos à la température du laboratoire et à la lumière.

Lecture. — Les sérums fortement positifs donnent un résultat lisible au bout de quelques heures; mais c'est après 12 heures que la lecture doit être effectuée; il est bon de la refaire au bout de 24 et même 48 heures. Pour faire cette lecture, on agite les tubes pendant quelques secondes, et on se place à quelques mètres d'une fenêtre dont on regarde les barreaux à travers les tubes. Dans ces conditions, le contenu d'un tube négatif laisse voir parfaitement les barreaux, alors que dans les cas positifs les contours de ceux-ci sont estompés

et parfois même impossibles à distinguer. On doit toujours comparer le tube à réaction avec le tube témoin.

Nota. — Dans les cas très fortement positifs, le floculat se sédimente; au bout de 12 heures, le liquide est complètement éclairci et surnage le culot de floculat.

Notation des résultats (au bout de 24 heures).

Réaction + + + + Liquide complètement éclairci surnageant le culot de floculat.
Réaction + + + .. L'opacité est très intense, mais il n'y a pas précipitation du floculat.
Réaction + + à + Opacité ± intense.
Réaction + ... Traces d'opacification visible, seulement par comparaison avec le témoin.
Réaction — ..... Le tube à réaction est identique au témoin.

Si les résultats sont négatifs au bout de 12 heures, refaire la lecture au bout de 24 et même 48 heures.

III. — *Réaction de Kahn (Standard).*

Matériel. — Le matériel nécessaire à la réaction comprend :

a) *Réactifs* : antigène titré (1) et eau salée à 9. p. 1.000;

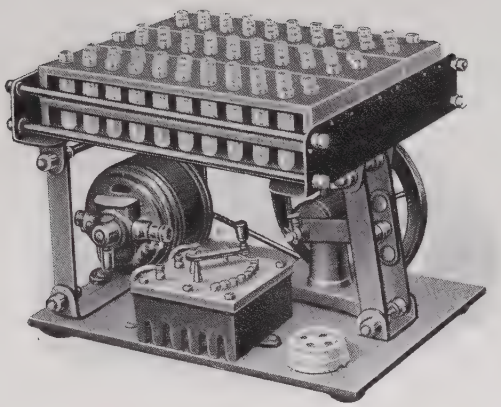
b) *Outillage*, savoir :

1° Tubes à fond rond de 7,5 cm. de long et 1 cm. de diamètre pour l'exécution de la réaction;

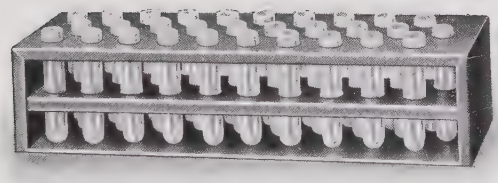
2° Tubes à fond plat de 5,5 cm. de long et 1,5 cm. de diamètre pour préparer la suspension d'antigène;

3° Pipette de 1 cm³ graduée, de façon que chaque division = 0,05 cm³; pipette de 0,5 cm³ graduée, de façon

(1) Cet antigène se trouve à la maison Leune, 28 *bis*, rue du Cardinal-Lemoine, Paris, ainsi qu'à la Biothérapie, 5, rue Paul-Barruel, Paris (XV^e^).
L'antigène original de Kahn est fourni par la Digestive Ferment Company-Detroit (Michigan), U. S. A.



Agitateur pour la réaction de Kahn.
(Lenne, constructeur.)



Porte-tubes pour la réaction de Kahn.
(Lenne, constructeur.)

que chaque division = 0,025 cm³; pipette de 0,25 cm³ graduée, de façon que chaque division = 0,0125 cm³.

Ces trois pipettes servent à répartir la suspension d'antigène dans les tubes à réaction.

4° Pipette de 0,75 cm³ graduée de façon que chaque division = 0,15 cm³. Servira à répartir le sérum à examiner.

5° Pipette de 10 cm³ graduée en centimètres cubes et 0,5 cm³, pour répartir l'eau salée; on peut lui substituer deux rhéomètres, l'un débitant 1 cm³, l'autre 0,5 cm³.

6° Supports à 3 rangées de 10 trous pour recevoir les tubes à réaction, et construits de façon à immobiliser suffisamment les tubes pendant l'agitafion (figure hors texte).

7° Agitateur électrique recevant les supports ci-dessus et donnant 275 à 285 oscillations par minute, avec une amplitude de 4 centimètres (figure hors texte).

8° Bain-marie réglé à 56 degrés d'un modèle quelconque.

Exécution de la réaction.

Sérums. — Les sérums ne doivent contenir aucun élément morphologique en suspension, sinon il y a lieu de centrifuger. Une légère hémolyse n'entrave pas la réaction. Prélever 1,5 cm³ environ de chaque sérum que l'on met au bain-marie à 56 degrés pendant 30 minutes.

Suspension d'antigène. — Prélever 1 cm³ d'antigène que l'on place dans un tube à fond plat. Dans un autre tube semblable, mettre une quantité d'eau salée indiquée par le titre de l'antigène : si ce titre est 1,2, cela veut dire que pour 1 cm³ d'antigène il faut 1,2 cm³ d'eau salée à 9 p. 1.000.

Verser aussi rapidement que possible l'eau salée dans l'antigène et retransvaser 5 à 6 fois. Laisser le mélange au repos pendant 10 minutes avant usage. La suspension n'est utilisable qu'entre les 10 et 30 minutes qui suivent sa préparation. Il ne faut jamais prélever moins de 1 cm³ d'antigène. Avec une quantité inférieure à 1 cm³, le mélange avec l'eau salée se ferait irrégulièrement.

1 cm³ d'antigène permet d'exécuter 15 réactions.

2 cm³ d'antigène permettent d'exécuter 35 réactions.

Répartition de la suspension d'antigène. — Après 10 minutes de repos, bien mélanger le contenu du tube en le bouchant avec le pouce et faire la répartition avec les pipettes correspondantes :

0,05 cm³ de suspension dans chacun des tubes de la première rangée;

0,025 cm³ de suspension dans chacun des tubes de la deuxième rangée;

0,0125 cm³ de suspension dans chacun des tubes de la troisième rangée.

Pour opérer ces répartitions, appliquer l'extrémité des pipettes au fond du tube et non contre les bords, pour éviter que la suspension se dessèche avant d'arriver au fond.

Répartition des sérums. — Ajouter 0,15 cm³ de sérum inactivé dans chacun des 3 tubes correspondant à chaque sérum.

Agitation. — Soumettre les tubes à l'agitation pendant 3 minutes à 275/285 oscillations par minute au moyen de l'agitateur mécanique. Si l'on agite à la main, se rapprocher de ce régime pendant trois périodes d'une minute séparées par quelques secondes de repos.

Addition d'eau physiologique. — Dans chaque tube de la première rangée (contenant 0,05 cm³ d'antigène) ajouter 1 cm³ d'eau salée à 9 p. 1.000 au moyen de la pipette ou du rhéomètre; en ajouter 0,5 dans ceux des deuxième et troisième rangées. Agiter quelques secondes pour mélanger.

Lecture. — Différentes méthodes sont proposées :

1° Examen direct;

2° Examen après grossissement à la loupe ou au miroir;

3° Examen devant la fente lumineuse.

Nous avons adopté la méthode par grossissement au moyen du miroir concave du microscope.

Le miroir étant placé horizontalement, on tient le tube en position inclinée à quelques centimètres au-dessus et on examine l'image dans le miroir. Dans les cas positifs, les granulations apparaissent avec une grande netteté. Cette méthode de lecture est excellente à la lumière du jour; elle est moins bonne à la lumière artificielle. Pratiquement il semble préférable de se limiter à une seule méthode de lecture.

Expression des résultats. — On fait la moyenne des résultats individuels donnés par chaque tube. Les résultats individuels, d'après Kahn, s'interprètent comme suit :

a) *Réaction* + + + + : Dans ce cas, des particules sont en suspension dans un milieu clair ou opalescent. Les particules individuelles sont visibles par examen direct sans sortir les tubes des porte-tubes.

b) *Réaction* + + + : Ici des particules plus fines sont également visibles, mais tranchent moins que dans la réaction + + + +. Les particules ne sont pas toujours visibles si l'on ne sort pas les tubes du porte-tube pour les examiner individuellement.

c) *Réaction* + + : Des particules encore plus fines sont en suspension dans un liquide souvent un peu trouble; et elles ne peuvent être distinguées qu'à la condition d'examiner individuellement les tubes en les inclinant.

d) *Réaction* + : Des particules encore plus fines sont en suspension dans un milieu quelque peu trouble.

e) *Réaction* ± : Des particules extrêmement fines exactement à la limite de visibilité sont en suspension dans un milieu quelque peu trouble.

f) *Réactions négatives* : Le milieu est transparent ou opalescent et exempt de particules visibles.

Interprétation des résultats.

Précipitation dans chaque tube				Nomenclature du Comité d'hygiène de la S. D. N.
Tube 1	Tube 2	Tube 3	Résultat final	
—	—	—	—	—
+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	
+ + +	+ + + +	+ + + +		
+ +	+ + + +	+ + + +		
+	+ + + +	+ + + +	+ + +	
—	+ + + +	+ + + +		+
+	+ + +	+ + + +		
—	+ + +	+ + + +		
—	+ + +	+ + +		
+	+ +	+ + +	+ +	
—	+ +	+ + + +		
—	+	+ + + +		
—	±	+ + + +		
—	—	+ + + +		
—	±	+ + +	+	
—	—	+ + +		±
—	±	+ +		
—	±	+ +	±	
—	—	+ +		
—	±	+		
—	—	+	—	—
—	—	—		

IV. — *Réaction de Bordet-Robyn.*

La réaction de Bordet-Robyn se pratique au moyen du réactif A.-B.-F. (Antigène-Bruxelles-Floculation).

Le floculo-diagnostic s'opère en mélangeant le sérum suspect bien débarrassé de globules et chauffé au bain-marie à 56 degrés à la suspension lipoïdique, qu'on prépare par simple dilution du réactif. Celui-ci doit être conservé soigneusement bouché (bouchons de liège) et ne doit pas être exposé à des températures trop basses, qui pourraient le troubler.

Suspension d'antigène. — On la prépare par addition successive à l'antigène de deux liquides : l'eau distillée carbonatée et la solution saline.

Eau distillée carbonatée. — Il n'est pas recommandable d'employer de l'eau distillée ordinaire, car sa réaction, habituellement un peu acide, varie selon les échantillons. Il convient de donner à l'eau une réaction constante, très légèrement alcaline, en y dissolvant une trace de carbonate de calcium en poudre (craie préparée). Ce produit doit être très pur. Or le CO^3Ca précipité contient parfois des traces de sels solubles. Pour le laver, on en introduit une certaine quantité dans un grand ballon, que l'on remplit à peu près complètement d'eau distillée. On chauffe au bain-marie et on agite. Après refroidissement et dépôt du carbonate, il est bon de remplacer le liquide par une nouvelle quantité d'eau distillée pour compléter le lavage. On jette alors sur un filtre et on met à sécher. Lorsqu'il est sec, le carbonate déposé sur le filtre est enlevé et conservé en flacon. Pour préparer l'eau distillée carbonatée, on introduit dans un ou deux litres d'eau distillée quelques grammes de CO^3Ca lavé; on agite fréquemment et on laisse en contact environ un jour pour que l'eau se sature; puis on filtre. L'eau ainsi traitée, légèrement alcaline, se teinte en rose net par la phénol-sulfonephtaléine. Il est utile, pour prévenir tout développement de microrganismes, de lui faire subir une courte stérilisation par chauffage au bain-marie vers 100 degrés. Une partie de cette eau carbonatée est conservée; l'autre partie sert à préparer la solution saline.

Solution saline. — ClNa : 25 g. + eau carbonatée : 875 g.

Préparation de la suspension d'antigène. — On prépare la suspension dans un vase de Berlin de forme haute; il doit être bien lavé à l'eau distillée, puis soigneusement essuyé. En raison de la large ouverture, le vase de Berlin permet la brusque introduction dans le réactif du volume requis d'eau distillée carbonatée et de la solution saline. La dilution du réactif doit en effet s'effectuer instantanément. On introduit dans

le vase de Berlin un volume du réactif. Immédiatement après, on verse brusquement dans le vase trois volumes d'eau distillée carbonatée mesurés au préalable dans une éprouvette graduée. Ensuite, après avoir bien opéré le mélange, on introduit de la même façon sept volumes de la solution saline.

Essai des sérums. — On attend une dizaine de minutes avant d'utiliser la suspension, mais elle n'est plus utilisable au-delà de 2 heures.

Réaction. — La réaction nécessite un tube par sérum. Dans une série de tubes de 12 à 15 millimètres de diamètre (nous avons utilisé à cet effet des tubes de Kahn), on introduit avec une pipette ou une rhéomètre 1 cm^3 de la suspension. On verse ensuite 0,5 cm^3 de sérum à éprouver dans chaque tube. On mélange et on met le tout au bain-marie à 40 degrés environ pendant 3 heures. On retire ensuite les tubes, que l'on maintient à la température du laboratoire. On les examine le lendemain matin.

Modification. — Au cours de notre expérimentation, nous avons remplacé l'incubation de 3 heures à 40 degrés par une agitation à 275 oscillations par minute pendant 3 minutes. Les résultats ont été comparables à ceux fournis par la méthode standard.

Lecture des résultats. — En présence de tout sérum (normal ou spécifique), il arrive parfois que le lipoïde tende à se concentrer vers la partie supérieure du liquide. Mais s'il s'agit de sérum normal, cet amas lipoïdique est très lâche; il se dissocie immédiatement et se résout en un trouble homogène lorsque, tenant le tube presque horizontalement, on lui imprime quelques légers balancements. Dans ces conditions, s'il s'agit de sérum syphilitique, le lipoïde reste condensé en grumeaux $\pm$ volumineux et compacts. Il est donc nécessaire, pour lire les résultats, de balancer doucement les tubes pour restituer au lipoïde son homogénéité dans les tubes où le sérum est négatif. Selon l'importance de l'agglutination, on peut classer les sérums Σ en sérums fortement (+ + +), moyennement (+ +) et faiblement (+) positifs.

Les floculations constatées dès le matin dans les tubes contenant le sérum Σ deviennent en général plus manifestes encore dans le courant de la journée. Il est bon, par suite, de revoir les tubes au bout de quelques heures, ou, même, le jour suivant. Il arrive souvent que les floculats se réunissent en un volumineux grumeau à la surface du liquide.

V. — *Réaction de Hecht.*

Nous avons pratiqué cette réaction au moyen de l'antigène de Bordet-Ruelens (1), l'index hémolytique du sérum étant déterminé dans une épreuve préliminaire.

1° Détermination de l'index hémolytique.

La réaction est disposée comme il est indiqué ci-après :

(En gouttes).

Tubes	I	II	III	IV	V
Sérum suspect.....	1	2	4	6	9
Hématies de mouton diluées à 5 p. 100 ..	3	3	3	3	3
Eau physiologique à 9 p. 1000.....	8	7	5	3	0

On place le tout à l'étuve à 37 degrés pendant 30 minutes, puis on observe les tubes dont l'hémolyse est totale; on choisit pour la réaction la plus petite dose de sérum ayant donné une hémolyse complète.

2° Réaction proprement dite.

Antigène : On place une quantité déterminée d'antigène dans un verre et on ajoute goutte à goutte la quantité d'eau physiologique correspondant à son titre.

La réaction nécessite trois tubes disposés selon les indi-

(1) L'antigène original de Bordet-Ruelens est livré par l'Institut Pasteur de Bruxelles.

cations ci-dessous, le dernier, qui ne reçoit pas d'antigène, sert de témoin.

(En gouttes).

Tubes	I	II	III
Quantité de sérum indiquée par l'index, soit *X* gouttes.....	*X*	*X*	*X*
Antigène.....	3	6	0
Eau physiologique.....	Q. S.	Q. S.	Q. S. p. 12 gouttes

Le tout est mis à l'étuve à 37 degrés pendant 45 minutes.

Au bout de ce temps, on ajoute à chaque tube 3 gouttes d'hématies de mouton diluées à 5 p. 100 et l'on remet à l'étuve à 37 degrés pendant 30 minutes.

Lecture : Quand la réaction est positive on n'a pas d'hémolyse dans les tubes I et II.

Si, au contraire, la réaction est négative, l'hémolyse existe partout.

Remarque. — Il est recommandé de ne pratiquer la réaction que 24 heures après la prise de sang.

CHAPITRE V

ETUDES COMPARATIVES ANTERIEURES

Avant d'exposer nos observations personnelles, il nous paraît utile de rappeler brièvement les résultats des observations antérieures.

La réaction initiale de Bordet-Wassermann fut suivie, comme nous l'avons vu, d'un très grand nombre de variantes. Des études comparatives ne tardèrent pas à s'instituer, et les diverses méthodes de sérodiagnostic de la Σ se révélèrent de valeurs très inégales. Nous nous en tiendrons à ce sujet aux résultats de la III[e] Conférence sérologique réunie à Copenhague en 1923 par le Comité d'hygiène de la Société des Nations, et où les réactions de floculation commencèrent à manifester leurs qualités. La réaction la plus sensible fut celle de Hecht qui donna 67,9 p. 100 de résultats positifs dans des cas de Σ confirmée, alors que celle de Bordet-Wassermann n'en donna que 56 à 59 p. 100; mais la première donna un plus grand nombre de réactions positives dans des cas où la spécificité ne pouvait être mise en cause. La réaction d'opacification de Meinicke fut la plus sensible des méthodes de floculation (45 à 54 p. 100 de résultats positifs); elle se classa avant celles de Sachs Georgi et de Dreyer et Ward.

Le développement toujours croissant des réactions de floculation multiplia les études comparatives effectuées entre les méthodes de fixation du complément et les méthodes de floculation.

Peu de temps après l'apparition de la dernière modification de la réaction de Kahn, Demanche et Quénot entreprirent une étude comparative du Kahn et du Hecht. Sur un

total de 817 cas de Σ confirmée, le Kahn donna 403 réactions positives (49,39 p. 100) et le Hecht 375 (45,9 p. 100), résultats qui attribuaient au Kahn une sensibilité légèrement supérieure à celle du Hecht.

Les mêmes auteurs ont effectué une série de contrôle pour la spécificité sur 169 sérums prélevés dans divers cas (dermatoses, vaccination antichancrelleuse, grossesse, tuberculose, cancer, etc.) non spécifiques. Ils n'ont obtenu aucune réaction faussement positive (seuls 3 sérums de cancéreux ont réagi faiblement).

Mlle Salamon, poussant plus loin les investigations, fit porter ses recherches sur les réactions de Kahn, de Hecht et de Meinicke (opacification). Elle examina ainsi 759 sérums. Les 3 réactions ont concordé 704 fois (97,7 p. 100). Dans les cas reconnus non spécifiques, le Kahn a donné 2 résultats positifs (0,26 p. 100), le Hecht et le Meinicke, 16 (2,1 p. 100). Ce travail accorde une sensibilité à peu près égale aux trois méthodes, et met en relief la spécificité particulièrement grande du Kahn.

Dans une deuxième série de recherches, Demanche et Quénot ont opéré sur un total de 12.000 sérums qui ont donné 2.160 réactions positives. Ils ont relevé 2,5 p. 100 seulement de discordance entre les résultats du Kahn, d'une part, et, d'autre part, ceux fournis par la combinaison du Hecht, Bordet-Wassermann et Calmette. Parmi ces discordances, 2 sur 3 étaient en faveur du Kahn. Ils concluent de là à la grande spécificité de la réaction de Kahn, qui leur semble également « plus souple et plus fine que la réaction d'opacification de Meinicke ».

Blitstein a également effectué une étude comparative entre les méthodes de Hecht, Meinicke, Kahn et Vernes. Il a constaté que la réaction de Hecht ne s'est jamais trouvée en défaut par excès de sensibilité, c'est-à-dire positive pour des sérums non Σ. Le Vernes s'est montré un peu hyposensible et le Kahn quelquefois trop sensible (il est vrai que l'auteur ne semble pas avoir employé un antigène rigoureu-

sement conforme à celui de Kahn, le réactif utilisé étant constitué par de l'antigène de Bordet-Ruelens additionné de 5 mgm de cholestérol par cc.).

Citons enfin les travaux de la IV[e] Conférence internationale de Sérologie, réunie à Copenhague en 1928 par le Comité d'hygiène de la Société des Nations. Les réactions de floculation y ont occupé une place prépondérante, et ce sont elles qui ont manifesté la plus grande sensibilité. Les réactions de Müller et Kahn viennent en tête, la première avec 63 p. 100 de résultats positifs spécifiques, mais 0,23 p. 100 de réactions faussement positives; la seconde avec 62 p. 100 de résultats positifs exacts et aucune réaction positive en dehors de la Σ. Celle de Meinicke s'est montrée moins sensible (48,59 p. 100 de résultats positifs) et aussi moins spécifique (2,09 p. 100 de résultats aspécifiques). Quant aux réactions de fixation du complément, leur sensibilité est généralement inférieure à celle des réactions de floculation. Ainsi la réaction de Sierakowsky donne 38,7 p. 100 de résultats positifs et celle de Harrisson-Wyler, 41,9. Les unes et les autres se sont montrées absolument spécifiques. La plus sensible des réactions de fixation du complément, celle de Jacobsthal, donne 52,6 p. 100 de résultats positifs, mais elle a contre elle 6,52 p. 100 de fausses réactions.

Le résultat de cette Conférence constitue un véritable monument dans les annales de la sérologie. Il démontre :

1° Que les réactions de fixation du complément sont généralement moins sensibles que celles de floculation. En forçant leur sensibilité on les rendrait moins spécifiques;

2° Que les réactions de floculation semblent allier la plus grande sensibilité à la spécificité maxima; à cet égard, la réaction de Kahn vient en tête, celle de Meinicke étant un peu moins spécifique.

Malgré ces résultats, la Conférence n'a pas cru devoir recommander spécialement une méthode, estimant sans doute qu'aucune réaction ne possède une sensibilité constante.

CHAPITRE VI

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons pratiqué nos réactions dans deux buts :

1° Diagnostic de la Σ;
2° Contrôle du traitement chez les syphilitiques.

I. — *Réactions pratiquées en vue du diagnostic de la syphilis.*

Nous avons pratiqué la plupart de ces réactions sur des sangs de malades hospitalisés pour les affections les plus variées, à l'Hôpital Saint-André, à la demande des médecins chefs des divers services, dans un but diagnostic.

Nous avons ainsi examiné un total de 1.969 cas en employant les méthodes de Hecht, Meinicke et Kahn et avons obtenu :

1.668 réactions négatives par le Hecht, le Meinicke, le Kahn;
210 réactions positives par le Hecht, le Meinicke, le Kahn;
91 réactions où les diverses méthodes étaient en désaccord.

Parmi les 91 cas discordants (ce qui représente 4,6 p. 100 de discordance), le diagnostic clinique a permis d'affirmer la Σ dans 37 cas. Pour les 54 cas restants, il nous a été impossible de pousser plus loin nos investigations, les malades ayant quitté l'hôpital.

Dans les 37 cas où la syphilis put être affirmée :

le Kahn a donné 31 réactions positives;
le Meinicke a donné 19 réactions positives;
le Hecht a donné 16 réactions positives.

En d'autres termes, le Kahn a permis de suspecter la Σ dans 83 p. 100 des cas discordants, le Meinicke dans 51 p. 100 et le Hecht dans 43 p. 100.

M. le Docteur Moureau a bien voulu, d'autre part, nous donner les résultats qu'il a obtenus en pratiquant les trois réactions précédentes dans des examens effectués dans son laboratoire de ville, à la demande de médecins praticiens de la région. Ses examens ont porté sur 512 sangs. Les trois réactions furent concordantes dans 438 cas et discordantes dans 74, soit, respectivement, des pourcentages de :

85,55 p. 100 pour les cas concordants;
14,45 p. 100 pour les cas discordants.

Dans les cas discordants, le Kahn fut positif 37 fois, soit 50 p. 100 et le Meinicke 55 fois, soit 74,32 p. 100. Le Hecht n'a jamais été positif lorsque les deux autres réactions n'étaient pas également positives.

Ces résultats différant un peu des nôtres, il y a lieu d'établir des moyennes : le pourcentage des cas discordants serait alors de 6,6 p. 100. La moyenne des cas discordants en faveur du Kahn serait de 61 p. 100, celle en faveur du Meinicke de 66 p. 100. Quant au Hecht, c'est lui qui est le plus souvent en défaut.

Il résulte en définitive de ces constatations que les réac-

tions de Kahn et de Meinicke sont plus sensibles que celle de Hecht, l'ordre de sensibilité des deux premières est assez voisin. Il y a d'ailleurs à cet égard des différences individuelles puisque tantôt c'est le Meinicke qui est seul positif, tantôt c'est le Kahn.

II. — ***Contrôle du traitement par les réactions sérologiques.***

(Cas examinés au Dispensaire de la Compagnie P.-O.-Midi.)

Il s'agit de sujets chez qui le Vernes a permis de diagnostiquer une Σ, et qui ont été mis au traitement spécifique. Ce traitement, analogue à celui pratiqué à l'Institut prophylactique du Docteur Vernes, consiste en courtes cures successives de Hg, Bi, As. Au cours de ce traitement, on assiste à des divergences souvent assez prononcées entre les diverses méthodes de séro-diagnostic. Certaines cèdent facilement au traitement; d'autres ne se négativent que très difficilement. Nos examens ont été pratiqués avec les méthodes de Kahn (Standard), Hecht, Meinicke Mutermilch, Vernes et Bordet-Robyn (cette dernière sur un petit nombre de sérums).

Nous avons spécialement étudié sous cet aspect 39 cas visant pour la plupart des syphilitiques anciens. Presque tous étaient déjà en traitement quand nous avons commencé nos observations. Ajoutons qu'il ne nous a pas toujours été possible de pratiquer la totalité de nos réactions pour chaque prise de sang, la quantité de sérum à notre disposition étant souvent trop faible.

Tous les malades que nous avons ainsi observés pendant une période prolongée ont été soumis à un traitement continu, par des cures alternées de Bi, As, Hg, dirigé par M. le Docteur Léger, chargé du centre de prophylaxie de la Compagnie P.-O.-Midi, qui a bien voulu nous donner quelques renseignements cliniques sur les malades faisant l'objet de nos observations, et auquel nous nous faisons un devoir d'exprimer ici notre vive gratitude.

1° Cas constamment traités et chez lesquels le traitement agit, soit sur une ou plusieurs réactions.

a) *Syphilis récente.*

Observation X. — N..., Σ^1.

Reconnu spécifique en mai 1931. Traité jusqu'à septembre; tombé à 0 pendant quatre mois. Resté au jalon, mais est remonté à 39 et 56. Remis au traitement depuis décembre. Revenu à 0 en mai 1933.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	+ + +	+	+		0
18 juin 1933 ..	+ + +	+ + +	±		0
24 juillet	+ +	—	—	+	0
18 octobre ...		+	—		0
	+	—	+	—	0
16 février 1934.	—	—	±	—	0

Observation XXII. — B... (O.), Σ^1, chancre anal.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
4 octob. 1933.		+ + + +	+ + + +	+ + + +	57
3 novembre .	+ + + +	+ + + +	+ + + +		24
Avril 1934	+	+ + + +	+ + + +	+ + + +	5

Observation XXIII. — B... (M.), Σ^1.

Depuis quinze jours, ulcération de la verge, adénopathie inguinale, ganglion dur, non douloureux, ultra +, réflexes normaux. Pas de troubles moteurs.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	±	—	+ +		0
	+ + + +	±	—		0
Mai 1933		+ + + +	+ + + +		18
4 juillet	+ +	+ +	—		6
27 juillet	+ + +	—	+	+	3
	±	—	—	±	0
31 janv. 1934..	—	—	—	—	0
10 mars	—	—	—	—	0

Observation XXXVII. — B... (J.), Σ^1.

Chancre du sillon datant de deux mois. Plaques muqueuses buccales. Roséole, réflexes normaux. Pas de troubles moteurs.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	+ + +				4
1er oct. 1933..	+ +	+ +		+	0
15 janv. 1934..	+ +	—	—	—	0
25 avril	—	+ + +	—	—	0 Contrôle

Observation VII. — C... (F.), Σ^2.

Contaminé en mai 1931. Traité en ville de mai à juillet par le novar. N'a jamais eu d'examen de sang. Traité au dispensaire le 21 juillet. Vernes à 0. Aucune lésion clinique apparente. Traitement continué 4 mois. Vernes restant à 0. Abandonné fin novembre sur jalon arsenical; 2 mois après : Vernes à 87, reprise du traitement fin janvier 1932; chute du Vernes tombé à 0 en mai. Traitement continué jusqu'à fin janvier 1933. Vernes toujours à 0. Resté sur jalon arsenical depuis janvier 1933. Vernes à 0 depuis cette épqoue.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	—	—			0
	—	—	—		0
	—	—	—		0
24 juill. 1933..	—	—	—		0
	—	—	—		0

b) *Cas de syphilis ancienne.*

Observation III. — M..., Σ ancienne.

Sans lésions, sans antécédents avoués, reconnu spécifique en 1932.

Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
+ + + +	—	—		0
+ + + +	—	—		0
+ + +	—	—		0

Observation V. — A... (J.), Σ ancienne.

Trouvé positif lors d'une visite en 1931 (D.O., 13). Ne se plaint de rien. Marié. Femme, une fausse couche. A eu une blennorragie, pas d'antécédents Σ avoués. Devant le résultat de son Vernes, avoue avoir eu un chancre il y a vingt ans, pour lequel il a

suivi un traitement de courte durée. Prétend n'avoir jamais eu d'accident Σ.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
3 avril 1933..	+ + +		+		7
4 juillet 1933.	+ +	+ + + +	—		5
29 août	+ + + +	+ + + +			3
3 janv. 1934..	+ +	+ +		+ + +	14
28 février	+ +	+ +	+	+	9
Juin	+	+ + + +	—	+	2

Observation IV. — M... (R.).

Chancre de la verge en 1914. Vernes à 0 en 1932.

L. C.-R. : leuco, 5,4; alb., 0,40; D.O., 0.

Est venu au dispensaire pour pertes de connaissance, vertiges; subit un traitement systématique.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	—	—			0
18 juin 1933 ..	—	—	—		0
31 juillet	—	—	—	—	0
1er octobre	—	—	—	+	0
	+ +	—	—	—	0
5 janv. 1934..	+ +	—	—	—	0
5 février	±	—	—	—	0

Observation VIII. — D..., Σ non avouée, 56 ans, a été reconnu spécifique en 1931, lors d'une visite. Vernes à 29 au début, à 0 depuis 1932. Présente des troubles aortiques.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	+ + +		—		0
4 juillet	+	±	—		0
19 février 1934.	—	—	—	—	1

Observation XII. — M... (G.), Σ ancienne.

Eruption prurigineuse des membres inférieurs et de la poitrine, type lichen. N'a jamais subi de traitement. Pas d'antécédents Σ connus.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
21 juillet 1933.	+ + +	+ + +	+ +		0
31 juillet	+ + +	±	—	+ + +	7
	+ +	—	±		
18 novembre ..	+ + +	+	—		
5 février 1934.	+ +	±	±	—	2
5 mars	+	+	—	—	0
17 mai	±	—	—	—	

Observation XVI. — M... (R.).

Chancre en 1905. Traitement par trois mois de pilules. Aucun accident depuis. Se plaignait de céphalées, insomnies, perte de mémoire, dysarthries, difficulté de parole, amaigrissement, légère trémulation des muscles du visage, affaiblissement mental, réflexes rotuliens, achilléens abolis, signe de Romberg.

L. C.-R. pathologique : leuco, 4,4; alb., 0,56; D. O, 85.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
7 juin 1933..	+ + + +	+ + + +	+ + + +		3
11 juillet	+ + +	±			5
31 juillet	+ + +	—	—	+	3
14 octobre		+			6
18 novembre ..	+ +	+ +	—		0
24 janv. 1934..	+ + + +	+ + +	+		4
28 février	+ +	±	+ +	—	2

Observation XVIII. — D... (P.).

Le 22 août 1932, congestion cérébrale avec hémiplégie gauche. Le malade a senti des vertiges et a eu le temps d'aller s'asseoir. N'a pas perdu connaissance. Marié, femme n'a pas fait de fausse couche. Pas d'antécédents Σ connus.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
2 oct. 1933...			—		13
	+ +	+ + + +	—		
8 janv. 1934..	+ + +	±	—	—	3
14 février	+	—	—	+	11
5 mars	+ +	+ + +	—		1
Avril	+	+	±	+ +	1
17 mai	+	+	—	—	

Observation XXI. — V... (K.), tabes.

Depuis plusieurs années, douleurs rhumatismales articulaires, douleurs fulgurantes, insomnies, amaigrissement, affaiblissement de la vue. Réflexes achilléens, rotuliens, pupillaires abolis. Romberg, traitement irrégulier.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
1er mai 1933 ..	+ + + +				2
7 juin	+ + + +	+ + + +			0
17 juillet	+	+	—		4
27 décembre ..	—	—		—	4
12 févr. 1934..	±	+ + + +	—	+	5
4 avril	±	+ + + +	+ +	+ +	0

Observation XX. — D... (G.), tabes.

Réflexes diminués, Romberg. Crises gastriques tabétiques, céphalées, vertiges. Un enfant né à terme, bien portant. Femme n'a pas fait de fausse couche. Aucun antécédent Σ connu.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
Mars 1933	±	+ +	+ +		5
14 juin	+ + + +	+ +	+ + +		6
Janvier 1934 ..	+ +	±	—	+	0
13 avril	+ +	+ +	—	+ +	0

Observation XXIX. — C... (A.).

Trouvé spécifique lors d'une visite de révision; Vernes à 8. Chancre en 1913, ayant duré plus d'un mois. Marié, 3 enfants nés à terme bien portants. Femme n'a pas fait de fausse couche, très bon état de santé. Réflexes normaux, pas de troubles moteurs.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
28 mars 1933..	+		+		7
28 juin	+ + + +	+ + + +	—		0
13 octobre	+ +	+	+		0
	+ + +	+	—	—	0
7 avril 1934...	+	+	—	+ + +	0 Jalon

Observation XXXI. — D... (L.).

Il y a deux ans, du côté de l'articulation sterno-claviculaire droite, grosseur comme un œuf de pigeon, douloureuse, diagnostiquée gomme Σ et ayant disparu avec l'élixir Déret. B.-W. positif. S'est fait traiter en ville par un médecin particulier. Céphalées, vertiges. Marié, 1 enfant né à 8 mois, bien portant. Femme n'ayant pas fait de fausse couche. Aucun antécédent Σ connu. Réflexes normaux.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
3 avril 1933..	+ + +				3
13 juillet	+	+	—		6
Avril 1934	±	+	—	+ + + +	6

Observation XXXV. — D... (J.), tabes.

Chancre en 1917. Traité pendant un an par une série d'injections. Depuis lors, n'a présenté aucun trouble. Pas de céphalées ni vertiges. Marié, pas d'enfant. Mis au traitement en 1932, à la suite d'une visite de révision. Un enfant né à terme, mort subitement à 3 mois 1/2. En 1927, naissance de deux jumeaux : l'un

mort et macéré, l'autre mort au bout de vingt jours, après avoir présenté du pemphigus. Réflexes achilléens normaux, réflexes pupillaires et rotuliens abolis.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
15 mars 1933..	+ + + +	+ + + +	+ + + +		42
22 mai	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	34
	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	
9 novembre ..	+ + +	+ + + +	+ + +		9

Observation XXXVI. — H... (F.).

Orchite droite depuis plus d'un an, pas très douloureuse. Testicule dur, non bosselé. Chancre en 1915, n'a pas été traité. Marié, un enfant de 9 ans, né à terme, bien portant. Femme n'a pas fait de fausse couche.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
31 mai 1933 ..		+ + + +	+ +		40
28 juin	+ + + +	+ + + +			38
18 octobre		+ + + +	—		3
17 janv. 1934.	+ + +	+ + +	±	+ + +	0

Observation XXXIX. — L... (P.).

Céphalées fréquentes. Pas de vertiges. Marié, 4 enfants nés à terme, bien portants. Femme n'a pas fait de fausse couche. Chancre en 1902 (?), réflexes normaux, pas de troubles moteurs. Traité depuis 1929.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
24 juin 1933 ..	±	—			2
24 juillet	±	—	—	+	2
9 novembre ..	±	—			0
11 décembre ..	+ +				0
15 janv. 1934..	±	—	—	—	0
2 février	—	—	—		

Observation XLII. — P... (M.).

Le 21 septembre 1926, a été pris subitement, au réveil, d'un ictus apoplectique léger, caractérisé par une parésie du membre supérieur gauche; diarthrie, impossibilité de dire certains mots, obnubilation de la vue, brouillard devant les yeux, difficulté de l'écriture, mots écrits les uns pour les autres. Pas de paralysie nette, ni du côté de la face, ni des membres. A l'âge de 18 ans, chancre

induré diagnostiqué Σ. Traitement : pilules et potion pendant un an environ.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
13 juillet 1933.	+	—	±		0
2 octobre		+ + +	—	+ + +	0
18 novembre ..	+	±	—		0
14 févr. 1934 ..	—	±	—	—	1
Juin	—	+ + +	—	—	0

Observation XLIV. — L... (J.), tabes.

Hypermétropie, presbytie. Depuis quelques semaines, douleurs profondes préorbitaires. Névrite optique. Pas de vertiges. Marié, 3 enfants nés à terme, bien portants. Aucun antécédent Σ connu. Il y a trois ans, paralysie faciale légère. Réflexes pupillaires et achilléens normaux, réflexes rotuliens abolis. Pas de troubles moteurs.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	+ +	—	—	+	0
14 oct. 1933 ..		+	—		0
17 novembre ..	+ +	—	—	—	0
	+	—	—	—	0

Observation XLV. — T...

Σ ignorée découverte à propos d'une visite périodique de sécurité en juin 1931. Vernes à 48, aucun signe clinique.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
20 mars 1933..	+ +	+ +	—		8
31 mai	+	+ +	—		7
2 octobre		+ + + +	—	+ + + +	0
Décembre	+ +	+ +	—	+ + +	8
19 janv. 1934..	+	+	—	+ + + +	7
25 avril	—	+ + + +	+ + + +	+ + + +	1

Observation XLIX. — D... (G.).

Reconnue positive au cours d'une visite de femmes enceintes. Aucun antécédent Σ avoué. Première grossesse, enceinte de 6 mois. Pas de fausse couche, mariée depuis cinq ans. Coliques, diarrhées :

Premier examen le 14 août 1933 :

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
14 août 1933 ..	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	23
29 août	+ + + +		+ + + +	+ + + +	23
10 janv. 1934..	+ +	+	—	—	0

1° Il semble résulter de cette série d'expériences que le Vernes et le Hecht se négativent beaucoup plus facilement que les autres réactions. La résistance au traitement des réactions semble croître dans l'ordre suivant : Vernes, Hecht, Meinicke, Kahn.

2° Cependant, il semble impossible d'énoncer une loi précise à ce sujet, le facteur individuel jouant un rôle assez important. Ainsi, dans l'observation XIII, le Hecht et le Meinicke se négativent plus vite que le Vernes.

Le Hecht se négative plus vite que le Vernes dans les observations V, XVIII et XXXVI.

3° Malgré la continuation du traitement, on observe une grande irrégularité dans les résultats sérologiques; nous en avons des exemples dans les observations V, XII, XVI, XVIII, XXI, XX, XLII et XLV. Tantôt toutes les réactions sont irrégulières, tantôt c'est l'une d'entre elles. La plus irrégulière semble être le Meinicke, dont la courbe de variations est souvent en dents de scie (obs. XII, XVIII, XVI, XXI). Il passe par des alternatives de positivité et de négativité.

4° On constate parfois que toutes les réactions sont et restent négatives, sauf une (obs. III, XXXIX, XLIV), qui demeure positive. Dans les trois cas, ce fut le Kahn.

2° Malades paraissant guéris et soumis au contrôle des 8 mois.

Loi des 8 mois. — Vernes affirme qu'un malade est guéri lorsqu'après provocation par le novarsénobenzol il subit un contrôle sérologique mensuel constamment à 0 pendant 8 mois, et lorsqu'au bout de ce temps une ponction lombaire révèle un liquide céphalo-rachidien normal (albumine, 0,20; leuco, 2 par millimètre cube; D.O., 0).

Observation XIII. — F... (A.).

Trouvé positif au Vernes en 1931. Aucun signe clinique. Mis au traitement. Tombé à 0 en mai 1932. Traité jusqu'en janvier 1933. Au contrôle depuis.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
Janvier 1933 ..		+ +			0
	—	±	—		0
31 juill. 1933..		—	—		0
29 août	+ +				0
2 octobre		+	—	+ +	0
	+	+ + +		—	0

Observation XXXIV. — J... (J.), Σ ancienne.

Pas d'antécédents cutanéo-muqueux constatés. En novembre dernier, avant d'entrer à la Compagnie du Midi, a eu au dispensaire un examen de sang, qui a donné : D.O., 42. Pas de maladies antérieures graves, sauf une pleurésie en 1926. Réflexes normaux. Pas de troubles moteurs.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
31 janv. 1934..	±	—	—	—	0
28 février	—	—	+ +	+	0
	—	±	—		0 Jalon
20 avril	±	—	+	—	0
17 mai	—	+	+ +	+	0

Observation XXXVIII. — B... (L.), Σ^2.

Au mois de juillet 1932, apparition à la paume des deux mains d'une éruption phlycténulaire, dit le malade, dont on voit actuellement des taches cicatricielles (probablement Σ palmaire). Rien sur la poitrine, pas de roséole, aucun antécédent Σ connu. Marié, un enfant né à terme, femme pas de fausse couche.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	±	—			0
	±	—	+		0
27 juill. 1933..	—	—	±	±	0
14 octobre	—	—	—	—	0
	—	±	—	—	0 Jalon
21 janv. 1934..	+ +	+	+ + + +	+	9

Observation XLVII. — S... (F.), Σ^2.

Chancre amygdale. Il y a un mois et demi, amygdalite du côté droit, avec ganglion de ce côté, dur, pas très douloureux. Depuis dix jours, éruption disséminée sur la poitrine et sur le front. Syphilides probables. Fatigue générale, amaigrissement, réflexes

normaux, pas de troubles moteurs. Traité depuis 1932. Vernes, 110.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	—	—	—		0 (*)
4 juillet 1933.	—	—	—		0
18 octobre		—	—		
18 novembre ..	—	—	—		0

(*) Au jalon depuis mai 1933.

Observation XLVIII. — D... (M.).

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
25 juin 1933 ..	—	—	—		0
	+ + +	+ + + +	—	+ + +	(*)
	—	—	—	—	0

(*) Réactivation après jalon.

Dans la période des 8 mois que Vernes a instituée pour établir son test de guérison, il arrive très souvent que le Kahn et le Meinicke restent positifs, alors que le Vernes demeure négatif. Il peut arriver que le Hecht se réactive malgré la négativité du Vernes (obs. XXXIV). Le fait corrobore ce que nous avons dit, à savoir que le Vernes est la moins sensible des quatre réactions; après lui viennent le Hecht, et enfin le Meinicke et le Kahn, qui ont des sensibilités assez voisines. Il semble donc que, dans un test de guérison de la Σ, il y ait intérêt à ne pas se fier exclusivement à une seule réaction, mais plutôt à en pratiquer plusieurs corrélativement. Leur négativation simultanée, se manifestant constante (dans les conditions de la loi des 8 mois), semble permettre d'affirmer, à coup sûr, la guérison du malade.

3° Cas dans lesquels le traitement n'influe pas sur les réactions.

Observation II. — D... (A.), Σ ancienne.

Aurait eu de vagues lésions à l'anus à 23 ans, et aurait été traité par les pilules de Ricord. En 1927, gomme au bras droit, disparue par le traitement. Vernes toujours positif.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
3 avril 1933..	+ + + +				7
12 juin	+ + + +	+ + +	+ +		11
11 juillet	+ + + +	+ + +	+ + + +		7
	+ + +		+ + + +		
1er octobre	+ + +	+ + +		+ + +	7
9 novembre ..	+ + +	+ + +	—		6
8 janv. 1934..	+ + + +	+ + +	+	+ + +	4
31 janvier	+ + +	+ + + +	+ +	+ + +	8
19 février	+ + + +	+ + + +	+	+ + +	11

Observation XXX. — R... (M.).

a) Depuis cinq ans, sans raison apparente, grosseur au niveau du coude gauche, avec empâtement, rougeur et légère douleur (aspect de gomme Σ), qui s'est ulcérée et a laissé couler du pus de nécrose.

b) Lésion semblable au niveau du tiers supérieur de l'avant-bras gauche. 3 enfants bien portants. Une fausse couche à 3 mois. Céphalées fréquentes.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
	+ + + +	+ + + +	+ + + +		44
29 mai 1933 ..	+ +	+ + + +	+ + + +		52
24 juin	+ + + +	+ + + +	+ + +		46
4 janv. 1934..	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	83
17 mai	+ + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	

Observation XXXII. — L... (R.), Σ ignorée.

Depuis treize ans environ, et, à la suite, dit la malade, d'un choc à l'occasion d'un tamponnement, douleurs d'estomac, comme une torsion; après les repas, vomissements. L'état général paraît plus mauvais depuis deux mois; amaigrissement, céphalées assez fréquentes, vertiges. Mariée, aucun antécédent Σ connu.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
Sept. 1933	+	+ + +	+		3
1er octobre	+ +	+ + +		+ +	3
5 mars 1934..	+	+ + +	—	+ + +	0
Juin	±	+ + +	—	+ + +	6

Observation XXXIII. — L... (J.), tabes.

Vient au dispensaire en 1931 pour mydriase de la pupille droite, qui a débuté il y a un mois.

Depuis l'apparition de cette mydriase, le malade se plaint de céphalées frontales intermittentes. Bon état général. Marié, 3 enfants bien portants. Femme bien portante, pas de fausse couche.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
Mars 1933	+ + + +		+		5
18 juin	+ + + +	+ + + +	+ + + +		7
31 janv. 1934..	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	6

Observation XL. — A... (J.), Σ ancienne.

Chancre en 1903, avec roséole. Traitement pendant six mois par piqûres et pilules (hôpital de Brest). Depuis lors, rien. Marié en 1908. Un enfant de 21 ans bien portant. Femme a fait une fausse couche de 5 mois. Traité depuis 1931.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
1er mai 1933 ..	+ + + +	+ + + +	+ + + +		40
19 juillet	+ + + +	+ + + +	+ + + +		39
14 novembre ..	+ + + +	+ + + +	+ + + +		44
11 févr. 1934..	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	52
17 mai	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	

Observation XLI. — B... (M.), Σ ancienne.

Reconnu spécifique le 23 novembre 1933. Chancre Σ il y a dix ans, traité localement. Aucun autre traitement. Pas d'accidents. Marié, 2 enfants nés à terme, bien portants. Femme n'a pas fait de fausse couche.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
23 nov. 1933 ..		+ + + +	+ + + +		137
25 décembre ..	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	150
25 avril 1934..	+ +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	92

Observation XLIII. — P... (L.), Σ ancienne, tabes.

Douleurs fulgurantes depuis plusieurs années. Tous les réflexes abolis. Romberg, chancre du mamelon en 1905.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
4 juillet 1933.	+ + + +	+ + +	+ + + +		27
26 juillet	+ + + +	+ +	+ + + +	+	34
5 janv. 1934..	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	29
17 mai	+ + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	

De ces quelques cas, on peut déduire qu'il arrive parfois que le traitement n'agit sur aucune réaction. A vrai dire, nos examens portent sur un an d'observations seulement; mais il convient de noter que, pendant ladite année, les malades ont été traités sans arrêt par des cures alternées de Bi, As, Hg. Mlle Bugeaud (thèse Paris, 1934), prétend que le Hecht se négative en 7 semaines, le Meinicke en 5 semaines 1/2 pour Σ^1 et 7 semaines 1/2 pour Σ^2. Le Kahn en 7 semaines 1/2 pour Σ^1, et 8 semaines pour Σ^2.

Nous avons rarement observé un délai aussi court. Toutefois, le nombre de cas que nous avons pu pratiquer ne nous permet pas de prendre position sur ce point.

4° Cas dans lesquels le traitement provoque une réactivation des réactions.

Observation I. — B... (A.), tabes.

Chancre en 1903. Aurait suivi un traitement irrégulier par pilules pendant deux ans. S'est présenté au dispensaire en mars 1931. Tabes confirmé. Vernes, 116. Actuellement au traitement. Marié, 2 enfants nés à terme, bien portants. Femme, pas de fausse couche.

	Kahn	Meinicke	Hecht	Bordet-R.	Vernes
20 mars 1933..	+ + +	—			2
1er mai	+ + + +				2
18 juin	+ + + +	—	+ + +		8
11 juillet	+ + +				4
25 août	+ + +				5
9 septembre..	+ + + +	—			40
14 septembre..	+ + + +	±	+ + + +		89
4 décembre ..	+ + + +				136
24 janv. 1934..	+ + + +	—	+ + + +		132
14 février	+ + + +	—	+ + + +	—	109
23 mars	+ + + +	±	+		46
13 avril	+ + + +	+ + + +	+ + + +	—	103
25 avril	+ + + +	±		—	102
17 mai	+ + + +	—	+ + + +	—	
Juin	+ + + +	±	+ + + +	—	108

Cette observation curieuse montre chez un malade au sujet duquel, il est vrai, le Kahn est resté constamment positif, une réactivation soudaine du Vernes, accompagnée d'un accroissement dans la positivité du Kahn, sous l'influence d'un traitement continu pendant plus d'un an.

Déjà, dans d'autres observations (IV), nous avons vu le Kahn se réveiller, mais ce ne fut que passager, et la réactivation n'a porté que sur une seule réaction. Dans l'observation I, le phénomène est beaucoup plus général et quelque peu déconcertant. Il est à noter toutefois que cette réactivation sérologique ne s'est accompagnée d'aucune réactivation clinique. Un tel fait a déjà été signalé une fois à l'Institut prophylactique de Paris par le Docteur Léger, Aucune explication n'en a été donnée.

III. — *Spécificité des réactions de Hecht, Kahn et Meinicke.*

Nous n'entreprendrons pas de discuter ici la question de la spécificité des réactions précédentes dans le diagnostic de la syphilis. Tout le monde est d'accord pour admettre que lorsque ces trois réactions sont également positives, la spécificité ne saurait être mise en doute.

Mais en est-il de même lorsqu'une seule réaction se montre positive, surtout si la positivité est faible ? Nous aurions voulu, pour pouvoir répondre à cette question, connaître exactement l'impression clinique des praticiens qui ont examiné et traité les malades dont les sérums donnaient des résultats discordants avec les trois réactions précédentes. Malheureusement, nous n'avons pu glaner que quelques renseignements épars sur ces sujets.

C'est ainsi que le Kahn et le Meinicke se sont montrés positifs chez un malade atteint de fièvre de Malte, chez lequel la spécificité n'a pas été révélée par d'autres signes. Le Hecht s'est montré positif dans un cas de paludisme où il n'y avait pas de raison de croire à l'existence de la Σ.

Mais on peut se demander si cela constitue une preuve suffisante.

Nous avons eu également un cas de lèpre chez lequel le Hecht et le Kahn ont été positifs. Le sujet était en même temps tuberculeux et subissait un traitement aux sels d'or. Ici encore, il n'a pas été possible de déceler cliniquement la Σ, mais il n'est pas sûr qu'elle n'existait pas.

L'embarras est grand, en clinique, lorsqu'on se trouve en présence de réactions discordantes, où, par ailleurs, l'examen du malade ne révèle rien de très pathologique. Il faut se méfier cependant et rechercher minutieusement les stigmates latents qui peuvent venir étayer la suspicion qu'éveille la réaction sérologique : ganglions épitrochléens, leucoplasie buccale, légère augmentation du volume de l'aorte, hypertension artérielle, glycosurie, notion d'un chancre antérieur, fausses couches, hérédité, etc. On admet qu'une réaction unique ne peut pas suffire à justifier un traitement; mais si le moindre symptôme clinique vient à étayer cette suspicion, le traitement spécifique doit être envisagé.

Dans tous les cas, un fait est certain, c'est qu'il y a intérêt à ne pas se fier à une seule réaction.

Blitstein affirme, en effet, que « pour déceler avec certitude la Σ, il est indispensable de recourir au moins à une réaction d'émolyse et à une réaction de floculation ». A. Sézary et Georges Lévy aboutissent aux mêmes conclusions : « ... il faut nécessairement, disent-ils, pour obtenir un résultat valable, employer concurremment des réactions de fixation du complément et des réactions de floculation ».

A cet effet, quelle méthode choisir ? La réaction de fixation de Hecht, moins délicate à pratiquer que celle de Bordet-Wassermann, et qui, à condition de mesurer pour chaque sérum son index hémolytique, permet d'éviter les fausses réactions, nous semble la plus recommandable. Pour pratiquer cette réaction, nous avons utilisé l'antigène de Bordet-Ruelens (extrait alcoolique de cœur de veau préalablement épuisé par l'acétone), et, de nos expériences, nous pouvons conclure qu'elle jouit d'une très grande spécificité.

En ce qui concerne la réaction de floculation, celle de Kahn semble avoir la plus grande valeur. Elle offre, de plus, l'avantage de donner la possibilité de préparer soi-même l'antigène. Celui avec lequel nous avons pratiqué nos réactions a été réalisé selon les directives de Kahn, que nous avons énoncées dans un précédent chapitre. Il nous a donné entière satisfaction.

Pour atteindre la constance des résultats, la réaction de Kahn exige une observation rigoureuse de la technique dont un des points essentiels (souvent négligé) semble résider dans la vitesse d'agitation. A cet égard, il serait souhaitable que les constructeurs prévoient, pour leurs agitateurs, un indicateur de vitesse, la marge entre les 275 à 285 oscillations par minute et les 300 qu'il ne faut pas dépasser étant un peu faible pour se dispenser d'un instrument de mesure.

Il est regrettable qu'une réaction qui offre de telles qualités nécessite un matériel assez important. Aussi ne saurions-nous sous-estimer la réaction de Meinicke-Mutermilch, qui, tout en possédant une sensibilité voisine de celle de Kahn, quoique peut-être avec un peu moins de régularité, a sur cette dernière le gros avantage de ne nécessiter aucun matériel spécial : quelques tubes, deux pipettes et un récipient quelconque faisant office de bain-marie représentent tout le matériel; de plus, la technique en est très simple. La réaction de Meinicke-Mutermilch se trouve donc tout indiquée pour les médecins et les laboratoires ne disposant pas d'un outillage approprié.

IV. — *Contrôle du traitement et de la guérison.*

Si la réaction de Vernes ne nous paraît pas posséder toute la sensibilité requise pour une méthode courante de diagnostic de la Σ, elle apparaît, par contre, comme extrêmement précieuse pour diriger un traitement. Les variations de la densité optique permettent de se rendre compte si une médi-

cation agit ou non, et rend par là même les plus grands services au clinicien.

Toutefois, il faut remarquer que les réactions de Hecht, et surtout celle de Kahn et de Meinicke, se négativent moins vite que le Vernes, et, lors du contrôle de guérison, elles se réactivent plus souvent que lui. Aussi ne nous paraît-il pas désirable de se fier uniquement au Vernes pour la conduite du traitement de la Σ. Ici encore, comme pour le diagnostic, c'est l'observation simultanée des quatre réactions qui donne les meilleures garanties.

CONCLUSIONS

I. — Un très grand nombre de méthodes ont été préconisées pour le diagnostic de la Σ. Leur principe initial, à peu près identique, est encore assez obscur. On reste sur cette conjecture qu'il s'agirait de phénomènes colloïdaux.

II. — Dans notre travail, nous avons essayé de nous rendre compte de la valeur pratique de quatre réactions : une réaction de fixation du complément, le Hecht, et trois réactions de floculation : le Kahn, le Meinicke-Mutermilch et le Vernes.

Toutes ces réactions ont témoigné d'un degré d'exactitude tel qu'on peut les considérer comme pratiquement spécifiques. Seule leur sensibilité respective est quelque peu différente. Le Kahn et le Meinicke semblent allier à une grande spécificité une sensibilité maxima. La valeur du Kahn a d'ailleurs été sanctionnée par les Conférences de Copenhague et de Montevideo.

III. — Tant pour le diagnostic que pour le contrôle du traitement de la Σ, il est utile de ne pas se fier à une seule réaction, mais d'en pratiquer plusieurs. L'expérience a montré que la réaction la plus sensible peut rester muette devant un cas de Σ confirmée; la moins sensible fournit parfois le diagnostic.

IV. — Mais, au point de vue du contrôle du traitement de la Σ, il est commode d'associer la réaction de Vernes aux trois autres réactions.

Vu : *Le Doyen*,
PIERRE MAURIAC.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
E. AUBERTIN.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 28 novembre 1934.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

Mauriac. — Le séro-diagnostic de la Σ. Travail du laboratoire de médecine expérimentale. Thèse Bordeaux, 1909.

Bordet. — Traité sur l'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1920.

Levaditi et Marie. — Les anticorps Σ dans le L. C.-R. des paralytiques généraux et des tabétiques. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, févr. 1907.

— L'action du L. C.-R. des paralytiques généraux sur le virus Σ. *C. R. de la Soc. de biol.*, mai 1907.

Chevrel, Bodin et Cormier. — Antigènes Σ et mécanisme des réactions sérologiques. *Ann. de dermatol. et de syphil.*, t. IV, n° 9, p. 834, sept. 1933.

— Etude des réactions de floculation. Variation des réactions de Meinicke en fonction du pH. *Ann. de dermatol. et de syphil.*, t. III, n° 6, p. 530, juin 1932.

Ducco (C. L.). — Las reacciones serológicas para la Σ. Influencia del pH del medio. *Prensa medica argentina*, XVIII, 20 avril 1932.

Lecomte du Nouy. — *Ann. des mal. vénér.*, mars 1933.

— *Ann. de l'Inst. prophyl.*, 2e trim., 1933.

— Equilibre superficiel des solutions colloïdales. Masson, 1929.

— *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. 43, 1929.

— *Ibid.*, t. 42, 1928.

— *Ibid.*, t. 49, 1932.

Sachs. — Les problèmes de physiologie pathologique et les conceptions nouvelles de l'immunité. *Wien. Klin. Wochenschr.*, nos 13 et 14, 1928.

Desmoulières. — L'antigène pour la réaction de Wassermann. *C. R. de l'Acad. des sc.*, t. XCV, p. 592.

Seelich. — *C. R. de la Soc. de biol.*, 110, 1932.

Ronchèse. — La réaction de B.-W. Masson, 1919.

Gordon, Davis. — Destruction du complément du sérum humain par chauffage à 55 degrés. *The Journ. of Labor. and Clin. Med.*, mars 1925.

Busila. — *Presse médicale*, 23 sept. 1915.

Renaux. — Antigène syphilitique de l'Institut Pasteur de Bruxelles. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. LXXXII, 4880, 1919.

Tribondeau. — Sur la préparation des extraits lipoïdiques épurés selon Noguchi pour la réaction de Wassermann. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. LXXX, p. 579, 16 juin 1917.

Mutermilch. — La technique du séro-diagnostic de la Σ actuellement employée à l'Institut Pasteur de Paris. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XXXVIII, p. 827, sept. 1924.

Sézary. — A propos de la réaction de Hecht. *Bull. de la Soc. méd. des hôp. de Paris*, 22 et 29 févr. 1924.

Hallion et Bauer. — Utilité de l'évaluation du pouvoir hémolytique naturel des sérums dans le diagnostic de la Σ par la méthode de Hecht. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. LXIX, p. 305, 29 oct. 1910.

Hecht. — Une simplification de la réaction de fixation du complément dans la Σ. *Wien. Klin. Wochenschr.*, t. XXI, n° 10, p. 338, 1909.

Rubinstein. — Emploi des sérums non chauffés pour le séro-diagnostic de la Σ. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. LXXV, p. 71, 20 janv. 1917.

Noguchi. — Séro-diagnostic de la Σ, 3e éd. Lippincott, Philadelphie, 1912; trad. franç. de A. Girauld, Paris, Masson, 1914.

Bergeron. — Réaction de Vernes, réaction de B.-W. et mesure de l'infection Σ. *Presse médicale*, fasc. 46, p. 762, 10 juin 1925.

Vernes. — Réaction de Vernes, réaction de B.-W. et mesure de l'infection Σ. Réponse à M. Bergeron. *Presse médicale*, 22 juill. 1925.

Léger (M.). — Ce qu'il faut savoir de la méthode de Vernes et des applications du photomètre. Paris, Maloine, 1929.

— Syphilis et syphilimétrie. *Marseille médical*, 25 sept. 1927.

Douris et Bricq. — Séro-diagnostic de la Σ, la réaction de Vernes et la syphilimétrie. *Bull. des soc. pharmacol.*, t. XXV, nos 11 et 12, nov.-déc. 1928.

Vernes. — Sur la précipitation de l'hydrate de fer colloïdal par le sérum humain normal ou Σ. *C. R. de l'Acad. des sc.*, t. CLXV, p. 769, 1917.

— Sur la précipitation d'un colloïde organique par le sérum humain normal ou pathologique. *Ibid.*, t. CLXV, p. 575, 1918.

Vernes et Douris. — Action du sulfocyanate ferrique sur le sérum humain normal. *Ibid.*, t. CLXVII, n° 10, 9 déc. 1918.

— Le graphique en syphilimétrie. *Ibid.*, t. CLXVIII, n° 4, 27 janv. 1919.

— Atlas de syphilimétrie. Les conditions expérimentales de l'extinction de la Σ. Paris, 1920.

— Mesure pondérale de la floculation par la photométrie. *Presse médicale*, 3 déc. 1921.

Dujarric de la Rivière. — Floculation des sérums en présence de mélanges antigènes-teintures de résine. Thèse doctorat de la Faculté des sciences, Paris, 1929.

Le Chuiton. — Recherches sur la réaction d'opacification de Meinicke. *Presse médicale*, n° 95, p. 1608, nov. 1930.

— Etude de la réaction de Meinicke; action des injections d'un vaccin anti-Ducrey sur cette réaction. *C. R. de la Soc. de biol*, t. XCVIII, n° 8, 7 janv. 1928.

Mutermilch (S.). — Contribution à l'étude de la réaction d'opacification de Meinicke. *Ibid.*, t. XCIV, p. 1331, 29 mai 1926.

Mutermilch et Compagnon. — Quelques précisions sur l'antigène de Meinicke et les conditions les plus favorables pour la marche de la réaction d'opacification. *Ibid.*, t. XCIII, p. 1224, 14 nov. 1925.

Meinicke. — Ma réaction d'opacification dans la Σ. *Deuts. Med. Wochenschr.*, n° 28, 1928.

Keining et Wester-Ebbinghaus. — Méthode simple de contrôle pour la réaction d'opacification de Meinicke par addition de formol. *Deuts. Med. Wochenschr.*, n° 46, p. 1552, 1922.

Kahn (R. L.). — The Kahn test a practical guide. The Williams and Willkins C°, Baltimore.

— Serum diagnosis of Σ by precipitation Governing principles. Procedures and clinical applications. The Williams and Willkins C°, Baltimore.

Holmes. — La réaction de précipitation de Kahn pour le diagnostic de la Σ. *Journ. of the Amer. Med. Assoc.*, t. LXXXI, n° 4, p. 294, 28 juill. 1923.

Kahn, Nagle and Kendrick. — Studies on antigens for Kahn test; uniformity in sensitiveness of standard antigen. *Journ. Infect. diseases*, XLI, 111, 1927.

Kendrick (P. L.) and Jenks (D.). — Stability of standard Kahn antigen. *Journ. of Labor. and Clin. Med.*, XI, 369, 1926.

SILVETTE (H.). — Device for dilution of antigen in Kahn precipitation test. *Journ. of Labor. and Clinic. Med.*, XI, 369, 1926.

— A note in connection with reading results of the Kahn precipitation test. *Journ. of Labor. and Clin. Med.*, XII, 764, 1928.

KAHN (R. L.). — Colloïd chemical aspects of the Kahn reaction. *Journ. de bact.*, XV, 49, 1928

KAHN (R. L.), MC DERMOTT (E.) and LUBIN (G.). — Principles of antigen correction for Kahn reaction. *Journ. de bact.*, XV, 49, 1928.

KAHN (R. L.) and NAGLE. — Studies on Standardization of antigen for Kahn test. *Journ. de bact.*, XIII, 36, 1927.

LEIBOFF (S. L.). — Method of reading Kahn precipitation test for Σ. *Journ. of Labor. and Clin. Med.*, XIII, 1068, 1928.

ROBERT (A.), KILDUFFE. — Etat actuel du séro-diagnostic de la Σ, avec références spéciales aux principes de base. *Amer. Journal of Clin. pathol.*, janv. 1933.

BUGEAUD (Mlle). — Action du traitement conjugué arséno-bismuthique sur les réactions de Hecht, Kahn, Meinicke (M.T.R.) et Vernes dans la Σ^1 et Σ^2. Thèse Paris, 1934.

BLITSTEIN. — Etude comparative des réactions de B.-W., Hecht, Meinicke, Kahn et Vernes. *Bruxelles médical*, p. 1400, 27 sept. 1931.

SÉZARY (A.) et LÉVY (Georges). — La valeur comparée des séro-réactions syphilitiques usuelles. *Presse médicale*, n° 27, p. 545, 4 avril 1934.

JEANSELME. — Traité de la Σ. Doin, Paris, 1931.

DEBAINS. — Etat actuel du séro-diagnostic de la Σ. *Presse médicale*, n° 76, p. 1435, sept. 1931.

18.702. — Bordeaux, Imprimerie-Librairie de l'Université, 6, pl. St-Christoly. — 1934.